

З.А. Тамарова, Ю.П. Лиманський, О.І. Костюк, В.А. Мітрузаева, Л.І. Лиманська

Дія червоного поляризованого світла на точку акупунктури E-36 підсилює протибольовий ефект корвітину

На моделі формалінового тесту досліджували можливість посилення протибольового ефекту корвітину у мишей лінії C57BL/6J і CBA/CaLac дією червоного поляризованого світла (ПС) на точку акупунктури (ТА) E-36. Ресстрували тривалість больової поведінкової реакції (вилузування ураженої кінцівки), викликаній ін'єкцією 5%-го розчину формаліну в стопу (0,25 мкл, підшкірно) до та після системного введення корвітину (10 мг/кг, внутрішньочеревинно) або сукупного застосування корвітину і червоного ПС (10-хвилинний сеанс відразу після створення осередку болю). Установлено, що після аплікації ПС на протибольову ТА E-36 у всіх тварин достовірно підсилюється протибольовий ефект корвітину. У мишей лінії C57BL/6J застосування одного корвітину послаблювало больову реакцію на 29,7 %, а при сукупному використанні червоного ПС і корвітину – на 53,1 %. Миші лінії CBA/CaLac були менш чутливі як до корвітину, так і до ПС. Корвітин викликав у них скорочення тривалості больової реакції на 14 %, а при сполученні з червоним ПС – на 32,4 %. Нетравматичний, без побічних ефектів метод дії низькоінтенсивним ПС може бути рекомендований хворим, які приймають корвітин, для посилення його ефективності.

Ключові слова: корвітин, поляризоване світло, формаліновий тест, анальгезія, точка акупунктури E-36.

ВСТУП

Корвітин – препарат, створений на основі біофлавоноїдів, був розроблений в Україні [4, 5] для лікування хворих з ішемічними ураженнями серця, включаючи гострий інфаркт міокарда. На відміну від раніше застосованого для цих цілей кверцетину, корвітин розчиняється у воді, що дає змогу вводити його у судинну мережу та забезпечує більш швидку дію на міокард. Відомо, що поряд з кардіопротекторним ефектом корвітин має антиноцицептивну дію. Він суттєво послаблює експериментально викликаний вісцеральний [15] і соматичний біль у мишей. Пригнічення соматичного болю показано в тестах «гарячої пластини» [23] і «відсмокування хвоста» [9], а також на моделі «форма-

лінового тесту» [10, 22]. Наші недавні дослідження показали, що попередня ін'єкція корвітину (20 мг/кг, внутрішньочеревинно) статистично достовірно пригнічує больову поведінкову реакцію, викликану ін'єкцією формаліну у тильну поверхню стопи [1, 2]. У мишей лінії C57BL/6J тривалість больової поведінкової реакції скорочувалася на 26,8 %. Ми також виявили, що больову реакцію на формалін вдається послабити дією поляризованого світла (ПС) на протибольову точку акупунктури (ТА) [3, 9, 16]. При цьому було показано, що червоне ПС викликає найбільший анальгетичний ефект [24]. Можна припустити, що поєднане застосування корвітину і ПС буде більш ефективне для пригнічення тонічного больового синдрому.

Метою нашої роботи було дослідження

© З.А. Тамарова, Ю.П. Лиманський, О.І. Костюк, В.А. Мітрузаева, Л.І. Лиманська

можливості посилення протибольового ефекту корвітину у мишей двох ліній (C57BL/6J і CBA/CaLac) дією червоного ПС на ТА Е-36.

МЕТОДИКА

Експерименти проводили на 80 дорослих мишах-самцях ліній C57BL/6J (n=40) і CBA/CaLac (n=40) масою 22–28 г. За 2 доби до експерименту їх розсаджували по одній у клітці (вільний доступ до їжі та води), а за добу до початку експерименту клітку з мишею переносили в експериментальну кімнату і ставили біля робочого комп'ютера для адаптації. Експеримент завжди починався у 10.00. Кожну мишу використовували лише в одному експерименті. Біль викликали підшкірною ін'єкцією 25 мкл 5%-го розчину формаліну (в 0,9%-му розчині NaCl) у тильну поверхню стопи лівої задньої кінцівки. Як відомо [13, 17], формалін викликає больову реакцію (вилування осередка болю), котра має дві фази: рання фаза (гострий біль) починається практично відразу після ін'єкції і триває 5–10 хв і пізня фаза (тонічний біль) продовжується 60 хв і більше з максимумом через 20–30 хв після ін'єкції формаліну. Формаліновий тест є класичною моделлю хемогенного тонічного болю і широко застосовується в різних лабораторіях світу.

Корвітин (Борщагівський фармацевтичний завод, м. Київ, Україна) розводили в 0,9%-му розчині NaCl і вводили внутрішньоочеревинно в дозі 10 мг/кг (по 0,1 мл/10 г маси тіла) за 10 хв до ін'єкції формаліну в лапку. Контрольна група тварин замість корвітину одержувала ін'єкцію 0,9%-го розчину NaCl у тому самому об'ємі.

Як джерело ПС використовували апарат "Біоптрон-компакт" фірми «Цептер» (Швейцарія), який випромінює низькоенергетичне (40 мВт/см²) лінійно-поляризоване світло

(поляризація 95 %) з довжиною хвиль 480–3400 нм (видимий спектр). На виході апарата встановлювали червоний фільтр (виробництво тієї самої фірми). Промінь червоного ПС був спрямований на ТА Е-36. Відстань від світлофільтра до шкіри 5 см. Спеціальна світлонепроникна насадка з отвором забезпечувала діаметр світлової плями 5 мм.

Тварини кожної серії були розділені на 4 групи (по 10 у кожній): одна контрольна та три експериментальні. Миші 1-ї (контрольної) групи одержували ін'єкцію 0,9%-го розчину NaCl (внутрішньоочеревинно), а через 10 хв підшкірну ін'єкцію розчину формаліну в лапку; зразу після введення формаліну тварину розміщували в камері-трубочку. Камера мала багато отворів для вільного доступу повітря до тварини. Ліву задню лапку через спеціальний отвір виводили за межі камери і протягом 10 хв м'яко утримували за щиколотку рукою експериментатора (імітація сеансу ПС). Миші 2-ї групи одержували ін'єкцію корвітину; через 10 хв вводили формалін підшкірно в лапку; потім 10 хв миша знаходилася в камері, як описано вище (імітація сеансу ПС). Тварини 3-ї групи одержували внутрішньоочеревинно 0,9%-й розчин NaCl, через 10 хв після цього їм робили ін'єкцію формаліну в лапку, потім 10 хв мишу утримували в камері-трубочці (як описано вище) і протягом цього періоду ТА Е-36 опромінювали червоним ПС. На тваринах 4-ї групи досліджували поєднану дію корвітину та ПС на біль, викликаний формаліном. Миші цієї групи одержували ін'єкцію корвітину, через 10 хв ін'єкцію формаліну в лапку і відразу протягом 10 хв піддавалися дії червоного ПС на ТА Е-36.

Після закінчення сеансу ПС або його імітації мишу випускали в свою клітку і протягом наступних 60 хв спостерігали больову поведінкову реакцію (вилування ураженої кінцівки). За допомогою спеціально розробленої у нашому відділі комп'ю-

терної програми реєстрували початок і кінець кожного циклу вилузування. По закінченні експерименту будували гістограми тривалості больової реакції за послідовні 30-хвилинні відрізки часу і за 60 хв спостереження в цілому.

Результати оброблялися статистично з визначенням середнього по кожній групі значення і квадратичної похибки середнього. Достовірність різниці між групами оцінювали за критерієм t Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Підшкірна ін'єкція формаліну в стопу викликала у всіх мишей больову поведінкову реакцію – вилузування ураженої кінцівки. Тривалість цієї реакції свідчить про інтенсивність болю. Оскільки перші 10 хв після ін'єкції формаліну в лапку всі миші знаходилися в камері-трубочці, ми не мали можливості спостерігати першу фазу

больової реакції (гострий біль) і надалі йтиметься лише про зміни тонічної фази болю.

Вплив корвітину на тонічний біль. Попередня (за 10 хв до створення джерела болю) ін'єкція корвітину скорочувала тривалість больової реакції. Уже в перші 30 хв як у мишей лінії C57BL/6J, так і лінії CBA/CaLac (рис. 1) біль послаблювався. Протибольова дія корвітину тривала і в другі 30 хв. Як показали наші попередні дослідження [1], сам корвітин не впливає суттєво на поведінку тварин у нормі (без осередку болю). Сумарні (за 60 хв спостереження) значення тривалості викликаной формаліном больової реакції наведено в таблиці. Тривалість больової реакції на фоні корвітину (група 2) у мишей лінії C57BL/6J становила 70,3 %, а у мишей лінії CBA/CaLac – 86 % від контрольного значення.

Наші результати узгоджуються з даними інших авторів. Антиноцицептивна дія

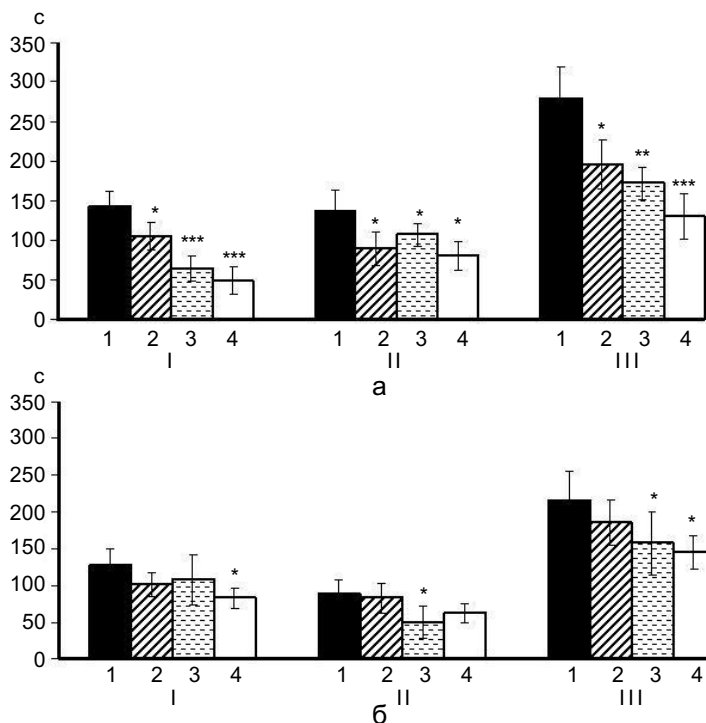


Рис. 1. Вплив корвітину, поляризованого світла і сумісного їх застосування на тривалість больової реакції у мишей лінії C57BL/6J (а) і CBA/CaLac (б) за перші 30 хв (I), за другі 30 хв (II) і за 60 хв спостереження в цілому (III): 1 – контроль; 2 – корвітин; 3 – червоне поляризоване світло на точку акупунктури (ТА) E-36; 4 – дія корвітину і поляризованого світла. * $P < 0,5$; ** $P < 0,05$; *** $P < 0,001$

препарату кверцетину, на основі якого створений корвітин, досліджувалася на різних поведінкових моделях соматичного та вісцерального болю. Було показано [10, 14, 22], що він дозозалежно послаблював больові поведінкові реакції у мишей, викликані підшкірною ін'єкцією формаліну, глутамату або капсаїцину, а також вісцеральну поведінкову реакцію, викликану внутрішньоочеревинним введенням розчину оцтової кислоти. Знеболювальний ефект значно послаблювався при дії парахлорфеніланіну – блокатора синтезу серотоніну, антагоністів ГАМК_A і ГАМК_B. Ці дані вказують на те, що кверцетин реалізує антиноцицептивну дію через механізми, в яких бере участь L-аргінін-NO-гуанілатциклаза, серотонінергічна і ГАМКергічна системи, але не холінергічна система. Згідно з іншими літературними даними, в антиноцицептивному ефекті кверцетину беруть участь D₂-дофамінергічні та α₂-адренорецептори [20], а також адренергічна [18] і опіоїдергічна [10, 11] системи мозку. Участь опіоїдергічної системи, однак, спростовується іншими авторами [14].

Порівняльний аналіз результатів, одержаних нами в експериментах на мишах двох генетичних груп, показав, що миші лінії C57BL/6J більш чутливі до корвітину, ніж тварини лінії CBA/CaLac. Аналогічна різниця була виявлена раніше при введенні корвітину за 20 хв до ін'єкції розчину

формаліну в лапку [1, 2]. Очевидно, ефективність анальгетичної дії корвітину визначається генетичними особливостями нейронної організації антиноцицептивних систем лінійних мишей C57BL/6J і CBA/CaLac [1].

Ефект поєднаного застосування корвітину та червоного ПС. Попередні наші дослідження на білих безпорідних мишах показали, що низькоінтенсивне ПС апарата Біоптрон при дії на протибольову ТА достовірно послаблює викликаний формаліном біль [19], причому червоне ПС було найбільш ефективне [24]. Теперішнім дослідженням було показано, що лінійні миші також чутливі до червоного ПС (див. рис. 1). Після 10-хвилинного сеансу червоного ПС на ТА Е-36 (група 3) тривалість больової реакції, викликаній формаліном, достовірно скорочувалася і у мишей лінії C57BL/6J становила 61,8 %, а у мишей лінії CBA/CaLac – 73,3 % від контрольного значення (див. таблицю). Як і у разі з корвітином, миші лінії C57BL/6J були більш чутливими до ПС, що підтверджує припущення щодо впливу генетичних факторів на функціонування протибольових систем.

У мишей, які піддавалися дії червоного ПС у поєднанні з корвітином (група 4), тривалість больової реакції на формалін була найменшою, вона становила 46,9 % (C57BL/6J) і 67,6 % (CBA/CaLac) від показника в контрольній групі. На рис. 2

Тривалість (с) больової поведінкової реакції на формалін за 60 хв спостереження у мишей лінії C57BL/6J і CBA/CaLac до і після внутрішньоочеревинної ін'єкції корвітину, після аплікації червоного поляризованого світла (ПС) на точку акупунктури Е-36 або поєднаного застосування корвітину і червоного ПС

Схема досліджу, група тварин	C57BL/6J	CBA/CaLac
Введення NaCl і імітація дії ПС (група 1)	278,9 ± 39,3 (100 % ± 14,1 %)	215,5 ± 38,7 (100 % ± 18 %)
Введення корвітину і імітація дії ПС (група 2)	196,2 ± 30,9* (70,3 % ± 11,1 %)	185,3 ± 30,2 (86 % ± 14 %)
Введення NaCl і дія ПС (група 3)	172,2 ± 20,3** (61,8 % ± 7,3 %)	157,8 ± 42,5* (73,3 % ± 19,7 %)
Введення корвітину і дія ПС (група 4)	130,9 ± 28*** (46,9 % ± 10 %)	145,6 ± 22,6* (67,6 % ± 10,5 %)

* P < 0,5, ** P < 0,05, *** P < 0,001.

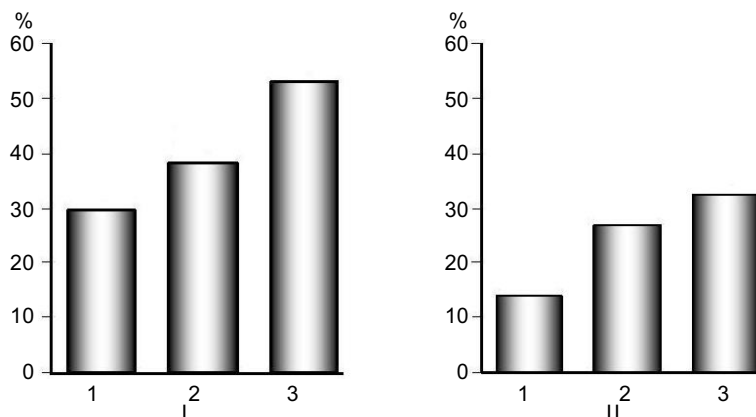


Рис. 2. Анальгетичний ефект корвітину (1), червоного поляризованого світла (2) або поєднаного їх застосування (3) у мишей ліній C57BL/6J (I) і CBA/CaLac (II)

показано анальгетичний ефект від застосування лише корвітину або лише червоного ПС і при використанні корвітину в поєднанні з червоним ПС. У мишей лінії C57BL/6J анальгезія при застосуванні корвітину становила 29,7 %, червоного ПС – 38,2 %, а у разі поєднаного застосування корвітину і ПС – 53,1 %. У мишей лінії CBA/CaLac анальгетичний ефект корвітину становив 14 %, червоного ПС – 26,7 %, а при поєднанні корвітину з червоним ПС – 32,4 %. Застосування червоного ПС збільшувало анальгетичний ефект корвітину в 1,5 раза (C57BL/6J) і в 1,3 раза (CBA/CaLac). Таким чином, нами вперше було виявлено, що дія червоного ПС на ТА Е-36 підсилює протибольовий ефект корвітину. Цей факт має велике практичне значення. Нетравматичний, без побічних ефектів, метод дії низькоінтенсивним ПС може бути рекомендований хворим, які приймають корвітин, для підсилення його ефективності.

Щодо механізмів взаємодії низькоінтенсивного ПС і корвітину, то будь-якої інформації про це в літературі нами не виявлено. Проте відомо, що низькоінтенсивні електромагнітні поля оптичного та мікрохвильового діапазону суттєво потенціюють анальгетичну дію опіоїдних і неопіоїдних анальгетиків [6, 8]. Очевидно, фармакологічні анальгетики і високочастотні низькоінтенсивні електромагнітні поля

виявляють схожу дію на больові поведінкові реакції у гризунів, використовуючи одні й ті самі антиноцицептивні системи стовбура мозку [7, 12, 21]. Ми вважаємо, що підсилення анальгетичного ефекту корвітину, коли він застосовується в комбінації з низькоінтенсивним ПС, також може бути зумовлено активацією одних і тих самих антиноцицептивних систем стовбура мозку. Однак для з'ясування механізмів такої взаємодії необхідні додаткові експериментальні дослідження.

З.А. Тамарова, Ю.П. Лиманский, О.И. Костюк, В.А. Митрузаева, Л.И. Лиманская

ДЕЙСТВИЕ КРАСНОГО ПОЛЯРИЗОВАННОГО СВЕТА НА ТОЧКУ АКУПУНКТУРЫ Е-36 УСИЛИВАЕТ ПРОТИВОБОЛЕВОЙ ЭФФЕКТ КОРВИТИНА

На модели формалинового теста исследовали возможность усиления противоболевого эффекта корвитина у мышей линий C57BL/6J и CBA/CaLac путем воздействия красного поляризованного света (ПС) на точку акупунктуры (ТА) Е-36. Регистрировали длительность болевой поведенческой реакции (лизание пораженной конечности), вызванной инъекцией 5%-го раствора формалина в стопу (0,25 мкл, подкожно) до и после системного введения корвитина (10 мг/кг, внутривенно) или совместного применения корвитина и красного ПС (10-минутный сеанс сразу после создания очага боли). Установлено, что после аппликации красного ПС на противоболевую ТА Е-36 у всех животных имеет место достоверное усиление противоболевого эффекта корвитина. У мышей линии C57BL/6J применение одного корвитина ослабляло болевую реакцию на 29,7 %,

а при совместном использовании красного ПС и корвитина – на 53,1 %. Мыши линии CBA/CaLac были менее чувствительны как к корвитину, так и к ПС. Корвитин вызывал у них сокращение длительности болевой реакции на 14 %, а при сочетании с красным ПС на 32,4 %. Нетравматический, без побочных эффектов, метод воздействия низкоинтенсивным ПС может быть рекомендован больным, принимающим корвитин, для усиления его эффективности.

**Z.A.Tamarova, Yu.P.Limansky, O.I.Kostyuk,
V.A.Mitruzaeva, L.I.Limanskaja**

**STRENGTHENING OF ANALGESIC EFFECT OF
CORVITIN BY ACTION OF RED POLARIZED
LIGHT ON THE ACUPUNCTURE POINT E-36
AT MICE OF LINES C57BL/6J AND CBA/
CALAC**

In experiments on mice of lines C57BL/6J and CBA/CaLac, the possibility of strengthening of analgesic effect of corvitin by the action of red polarized light (PL) on the acupoint (AP) E-36 was studied. The pain behavioral response (licking of the painful area) was caused by injection of 5% formalin in hind limb (0.25 µl subcutaneously). The duration of pain response was studied before and after systemic introduction of corvitin (10 mg/kg, intraperitoneal) or joint use of corvitin and red PL (10 minute session). It is established, that after application of red PL on the antinociceptive AP E-36 in all animals an authentic strengthening of antinociceptive effect of corvitin takes place. In C57BL/6J mice, application of corvitin alone weakened the pain response by 29.7% and during combined use of red PL and corvitin, it grew up to 53.1%. Mice of line CBA/CaLac were less sensitive both to corvitin, and PL. In this line, corvitin used alone reduced the duration of pain response by 14%, and by 32.4% during combined use with red PL. Non-traumatic, without side effects, the method of influence by low-intensive PL can be recommended to patients accepting corvitin for strengthening its efficiency.

Key words: corvitin, polarized light, formalin test, analgesia, acupuncture point E-36.

O.O.Bogomoletz Institute of Physiology, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Лиманський Ю.П., Багацька О.В., Гура О.В., Несін О.М., Сушко Б.С., Тамарова З.А. Вплив корвітину на соматичний біль у мишей різних генотипів // *Фізіол. журн.* – 2008. – **54**, №4. – С. 37–43.
2. Лиманський Ю.П., Гура О.В., Сушко Б.С., Тамарова З.А. Особливості анальгетичної дії корвітину у мишей різних генетичних ліній. – У кн.: Тези доп. IV конф. Укр. суспільства нейронаук, Донецьк–Слов'янськ, 2008. – С. 41.

3. Лиманський Ю.П., Тамарова З.А., Гуляр С.О. Дія кольорового поляризованого світла на тонічний біль у мишей. – У кн.: *Матеріали ХУП з'їзду Укр.фізіол. т-ва з міжнарод. участю, Чернівці, 18–20 травня 2006 р.* // *Фізіол. журн.* – 2006. – **52**. – №2. – С.44.
4. Максютина Н.П., Мойбенко О.О., Пархоменко О.М., Мясоедов Д.В. Використання нових лікарських форм кверцетину при ішемічних та радіаційних ушкодженнях: Метод. рекомендації. – К., 2000. – 13 с.
5. Мойбенко О.О., Досенко В.Є., Пархоменко А.Н. Эндогенные механизмы кардиопротекции как основа патогенетической терапии заболеваний сердца. – К.: *Наук. думка*, 2008. – 520 с.
6. Несін Е.Н., Гура Е.В. Анальгезия, индуцированная комбинированным применением трамадола и микроволнового облучения при соматической боли у мышей // *Нейрофизиология / Neurophysiology.* – 2006. – **38**, №4. – С. 314–320.
7. Несін О.М., Колбун М.Д., Гура О.В. Комбіноване застосування фармакологічних анальгетиків та мікрохвильового опромінення точки акупунктури для пригнічення вісцерального болю у мишей: роль опіоїдної та серотонінергічної систем мозку // *Там само.* – 2007. – **39**, №6. – С. 470–478.
8. Тамарова З.А., Лиманський Ю.П., Гуляр С.О. Порівняльне дослідження інтенсивності протибольової дії поляризованого світла й анальгетиків // *Фізіол. журн.* – 2005. – **51**, №2. – С.7–64.
9. Amanpreet S., Pattipati S.N., Shrinivas K.K. Quercetin, a bioflavonoid, reverses development of tolerance and dependence to morphine // *Drug Dev.Res.* – 2002. – **57**. – P. 167–172.
10. Anjane M., Chopra R.K. Reversal of lipopolysaccharide-induced thermal and behavioural hyperalgesia by quercetin // *Drug Dev.Res.* – 2003. – **58**. – P. 248–252.
11. Anjaneyulu M., Chopra K. Quercetin, a bioflavonoid, attenuates thermal hyperalgesia in a mouse model of diabetic neuropathic pain // *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry.* – 2003. – **27**, №6. – P.1001–1005.
12. Chuyan E.N., Dzheldubayeva Ї.R. Roles of different neurochemical systems in mechanisms underlying the antinociceptive effect of extrahigh-frequency electromagnetic radiation // *Нейрофизиология / Neurophysiology.* – 2007. – **39**, №2. – P.165–173.
13. Dubuisson D., Dennis S.G. The formalin test: a quantitative study of the analgesic effects of morphine, meperidine and brain stem stimulation in rats and cats // *Pain.* – 1977. – **4**. – P.161–174.
14. Filho A.W., Filho V.C., Olinger L., de Souza M.M. Quercetin: further investigation of its antinociceptive properties and mechanisms of action // *Arch. Pharm. Res.* – 2008. – **31**, № 6. – P.713–21.
15. Gadotti V.M., Schmeling L.O., Machado C., Liz F.H., Cechinel F.V., Meyre S.C., Santos A.R. Antinociceptive

- action of the extract and the flavonoid quercetin isolated from *Bauhinia microstachya* leaves // *J. Pharm. Pharmacol.* – 2005. – **57**. – P.1345–1351.
16. Gulyar S.A., Limansky Y.P., Tamarova Z.A. Suppression of pain by influence of bioptron-polarized light on acupoints // *Pain.* – 2006. – **10**. – P. 212.
17. Hanskaar S., Hole K. The formalin test in mice: dissociation between inflammatory and non-inflammatory pain // *Pain.* – 1987. – **30**. – P.103–104.
18. Kaur R., Singh D., Chopra K. Participation of alpha2 receptors in the antinociceptive activity of quercetin // *J. Med. Food.* – 2005. – **8**, №4. – P.529–532.
19. Limansky Y.P., Tamarova Z.A., Gulyar S.A. Suppression of pain by exposure of acupuncture points to polarized light // *Pain Research & Management.* – 2006. – **11**, №1. – P. 49–57.
20. Naidu P.S., Singh A., Joshi D., Kulkarni S.K. Possible mechanisms of action in quercetin reversal of morphine tolerance and dependence // *Addict Biol.* – 2003. – **8**, №3. – P.327–336.
21. Nesin E. Suppression of synthesis of serotonin: effect on antinociception induced by microwave irradiation and analgesic remedies // *Нейрофізіологія / Neurophysiology.* – 2006. – **38**, № 5/6. – С.498–499.
22. Ojewole J.A.O. Anti-Inflammatory and analgesic effects of *Psidium guajava* Linn. (myrtaceae) leaf aqueous extracts in rats and mice // *Methods Find Exp Clin Pharmacol.* – 2006. – **28**, №7. – P. 441.
23. Rulski M., Duriasz-Rowinska H., Rewerski W. The analgesic action of some flavonoids in the hot plate test // *Acta Physiol. Pol.* – 1979. – **57**, №3. – P.385–388.
24. Tamarova Z.A., Limansky Y.P., Gulyar S.A. Antinociceptive effects of color polarized light in animal with formalin test // *Фізіол. журн.* – 2009. – 55, №3. – С.81–93.

Ин-т фізіології ім.О.О.Богомольця НАН України, Київ
E-mail: tamar@kiev.ua

Матеріал надійшов до редакції 05.10.2009