

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ВИВЧЕННЯ ЛІКУВАННЯ НЕЙРОПАТИЧНОГО БОЛЮ ЗА УМОВ МОДЕЛЮВАННЯ РОЗСІЯНОГО СКЛЕРОЗУ

**Державний заклад «Дніпропетровська медична академія*

Міністерства охорони здоров'я України» (м. Дніпро, Україна)

Дніпровський медичний інститут традиційної і нетрадиційної медицини (м. Дніпро, Україна)

nefedov2406@gmail.com

В статті розглядається питання больового синдрому у хворих на розсіяний склероз. Ноцицепція у хворих може виявлятися різними типами болю – соматичним та нейропатичним. Саме проблема нейропатичного болю вкрай важко піддається терапії. Нерідко у цих пацієнтів порушується сон, розвивається депресія і тривога, знижується якість життя і працездатність. Значна кількість хворих потерпають від нейропатичного болю з-за відсутності адекватної анальгезії. Фармакотерапія пацієнтів із нейропатичним болем вимагає медикаментозної терапії, психологічної реабілітації та фізіотерапевтичного впливу. Не дивлячись на те, що ненаркотичні анальгетики виявляють доволі низьку ефективність щодо нейропатичного болю, їх приймають близько 3/4 хворих. Враховуючи сучасні рекомендації до препаратів першої лінії знеболення при нейропатичному болі відносять габапентин і прегабалін, трициклічні антидепресанти та інгібітори зворотного захоплення серотоніну і норадреналіну.

Тривале використання антиконвульсантів за умов ЕАЕ-індукованого нейропатичного больового синдрому викликає нормалізацію тактильної і больової чутливості різного ступеню вираженості. Здатність послаблювати прояви нейропатичного больового синдрому за умов експериментального еквіваленту РС зменшується в ряду габапентин \geq прегабалін $>$ натрію вальпроат \geq топірамат $>$ карбамазепін. Курсове застосування амітриптиліну і тразодону, але не пароксетину або флуоксетину за умов ЕАЕ викликає нормалізацію тактильної і больової чутливості різного ступеню вираженості. Здатність послаблювати прояви нейропатичного больового синдрому за умов експериментального алергічного енцефаломієліту зменшується в ряду амітриптилін $>$ тразодон $>>$ флуоксетин \approx пароксетин.

Ключові слова: експериментальний алергічний енцефаломієліт, розсіяний склероз, нейропатичний біль, знеболення, антиконвульсанти, антидепресанти.

Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами. В рамках науково-дослідної роботи кафедри фармакології і клінічної фармакології ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України» «Системна фармакологія неопіоїдних анальгетиків та засобів медикаментозного захисту мозку за умов патологічних станів» (ДР № 0114U000935) вивчалися особливості беззаспокійливої терапії за умов експериментального еквіваленту розсіяного склерозу (ЕЕРС).

Вступ. Проблема нейропатичного болю (НБ) набуває все більшої актуальності для клініцистів, що

напрямую пов'язано із значним поширенням цієї патології та труднощами в досягненні стійкого терапевтичного ефекту. Так, за наявними даними, поширеність НБ у загальній популяції – 7–8%, а на неврологічному прийомі пацієнти з НБ становлять близько 18%. НБ виявляють у 30–40% пацієнтів онкологічного профілю, у кожного 4-го пацієнта з цукровим діабетом (ЦД), у кожного 10-го пацієнта, який переніс інсульт, і у значної частки осіб із хронічним болем у нижній ділянці спини – 10–37%.

Проблема НБ полягає в тому, що цей тип больового синдрому вкрай важко піддається терапії і не завжди вдається повністю усунути больовий синдром. Нерідко у цих пацієнтів порушується сон, розвивається депресія і тривога, знижується якість життя і працездатність. Багато з них тривалий час терплять біль до того, як починають отримувати адекватну терапію.

Нейропатичний біль (НБ) спричиняється ураженням або захворюванням соматосенсорної системи, включаючи периферичні волокна (А β , А δ та С) і центральні нейрони. Соматосенсорна система дозволяє сприймати дотик, тиск, біль, температуру, положення, рух та вібрацію. Соматосенсорні нерви у шкірі, м'язах, суглобах та фасціях мають термо-, механо-, хемо-, пропріорецептори та ноцицептори, які надсилають сигнали до спинного і потім головного мозку для подальшої обробки. Більшість сенсорних процесів залучають таламічні ядра, що отримують сенсорний сигнал, який спрямовується в кору головного мозку. Ураження або захворювання соматосенсорної нервової системи можуть призвести до зміненої та невпорядкованої передачі сенсорних сигналів у спинний і головний мозок. НБ за механізмом розвитку відрізняється від інших хронічних захворювань, які супроводжуються болем, таких як запальний біль (наприклад при ревматоїдному артриті), первинною причиною яких є запалення зі зміною хімічних процесів у місці запалення; такий біль діагностують і лікують по-різному [1, 2].

Водночас, як зазначається дослідниками проблеми розсіяного склерозу (РС), захворювання є не тільки запальним за своєю природою, як це вважалося багато років, але і нейродегенеративним. Підтвердженням наявності нейродегенеративного компонента є поступове прогресування захворювання; наявність стабільних «чорних дір» на МРТ; морфологічно доведені загибель аксонів, апоптоз олігодендроцитів і нейронів не тільки в осередках демієлінізації, але і в «нормальній» білій і сірій речовині, що підтверджується зниженням рівня N-ацетиласпартата (NAA), виявлюваного при МР-спектроскопії (МРС); нароста-

юча атрофія головного і спинного мозку і розвиток когнітивних порушень [3, 4, 5].

Існує кілька гіпотез наявності зв'язку запальних і нейродегенеративних змін при РС. Згідно з однією з них, запалення первинно і саме запальні процеси в ЦНС призводять до нейродегенерації. За іншою – запалення і нейродегенерація при РС існують незалежно один від одного. І нарешті є гіпотеза, що первинна нейродегенерація з апоптозом мієліноутворюючих клітин – олігодендроцитів, а запальна реакція в мозку вторинна. Не виключено, що всі ці варіанти патогенезу дійсно мають місце при різних типах перебігу РС. Найбільш обґрунтованою представляється гіпотеза про те, що запалення і нейродегенерація лише частково взаємопов'язані – на ранніх етапах розвитку ремітуючого РС пошкодження аксонів є прямим наслідком запальної аутоімунної атаки, а при вторинно – і первинно-прогресуючому РС нейродегенеративні процеси розвиваються незалежно від запалення. Існує думка, що в цих випадках розвиток нейродегенерації схожий з постполіо – синдромом, коли клітини, що «вижили» після вірусної інфекції, через багато років піддаються апоптозу. Таким чином, при РС пошкоджені запальним процесом клітини можуть гинути через кілька років без розвитку запалення. І все ж у численних роботах показано, що висока частота загострень (прояв запалення) призводить до швидкого розвитку незворотного неврологічного дефіциту (прояв нейродегенерації). Цей факт дає підставу для раннього початку проведення нейропротективної терапії [6, 7, 8], яка «розширватиме» найбільш «вузькі місця» нейропротективного та антиоксидантного захисту. Натепер нейропротекція розсіяного склерозу визначається як захист нейронів і глії від ушкодження, яке викликається екзо- або ендогенними шкідливими агентами чи процесами [6]. Нейропротекція при розсіяному склерозі повинна забезпечити профілактику нейроапоптозу, підтримку нервових та гліальних клітин, які гинуть, а також регенерацію ушкоджень та представляється як універсальний терапевтичний підхід в регуляції балансу імунних і нейротрофічних факторів за даної патології [9].

Лікування пацієнтів із НБ у разі множинних супутніх захворювань – складний мультидисциплінарний процес, який вимагає медикаментозної терапії, психологічної реабілітації та фізіотерапевтичного впливу. Незважаючи на доведену низьку ефективність нестероїдних протизапальних препаратів (НПЗП) і анальгетиків у цих хворих, близько ⅓ з них отримують зазначені препарати. Неправильний вибір тактики лікування у хворих із НБ спричиняє зниження його ефективності та істотне збільшення тривалості лікування і витрат [10]. При цьому лише незначна частка лікарів використовують у своїй клінічній практиці повний перелік рекомендованих лікарських засобів, які можна було б застосувати як препарати першої лінії для купірування НБ [11]. Згідно із сучасними рекомендаціями, габапентиніди (габапентин і прегабалін), трициклічні антидепресанти та інгібітори зворотного захоплення серотоніну і норадреналіну є препаратами першої лінії в терапії у разі НБ [12, 13]. Препаратами другої лінії є трамадол і опіоїди, адже при їх застосуванні наявний підвищений ризик розвитку несприятливих побічних ефектів, медичних

ускладнень та залежності. Канабіноїди рекомендовані як терапія третьої лінії, оскільки на сьогодні недостатньо якісних даних щодо ефективності та безпеки їх застосування в терапії у разі НБ. До препаратів четвертої лінії відносять метадон, протисудомні препарати з нижчими показниками ефективності (ламотриджин, лакосамід), тапентадол і ботулінічний токсин [14, 15].

З урахуванням викладеного, **метою нашої роботи** було шляхом порівняльного системного аналізу і використання комплексних методичних підходів експериментально обґрунтувати шляхи фармакологічної корекції больового синдрому та медикаментозного захисту мозку за умов експериментального еквівалента розсіяного склерозу.

Об'єкт і методи дослідження. Для вивчення РС нами використана експериментальна модель з аутоімунними механізмами запальної демієлінізації – модель експериментального алергічного енцефаломієліту (ЕАЕ). Необхідно відзначити, що, як і при РС, клінічна картина ЕАЕ неоднорідна й варіює зі ступенем важкості захворювання.

Експериментальні дослідження були проведені на білих нелінійних щурах. Комісією з біоетики Державного закладу «Дніпропетровська медична академія МОЗ України» встановлено, що проведені наукові дослідження на експериментальних тваринах відповідають етичним вимогам згідно наказу МОЗ України № 231 від 01.11.2005 року. Дослідження виконувались у відповідності до принципів Хельсінкської декларації, прийнятої Генеральною асамблеєю Всесвітньої медичної асоціації (2000 р.), Конвенції Ради Європи у правах людини та біомедицини (1997 р.), відповідних положень ВООЗ, Міжнародної ради медичних наукових товариств, Міжнародного кодексу медичної етики (1983 р.), «Загальним етичним принципам експериментів над тваринами», що затверджені І Національним конгресом з біоетики (Київ, 2001 р.) згідно з положеннями «Європейської конвенції по захисту хребетних тварин, що використовуються в експериментах та інших навчальних цілях» (Страсбург, 18.03.1986 р.).

Перед початком експерименту на щурах всі тварини були оглянуті, зважені, враховувався їхній вік, рухова активність та стан шкіри. Після зовнішнього огляду та вибравки починали експеримент одночасно з контрольною групою. До та під час експерименту щури знаходились в віварії при температурі 20-25°C, вологості не менш 50%, у провітрюваних приміщеннях та світловому режимі день/ніч в стандартних пластикових клітках не більш 5 осіб в кожній, на стандартному раціоні харчування. Всі тварини, що приймали участь в експерименті, мали здоровий вигляд і були активні [16].

Для відтворення експериментального алергічного енцефаломієліту використано найбільш поширений метод введення енцефалітогенної емульсії внутрішньошкірно в подушечки пальців [17], в ділянки груднини чи спинки тварин [18, 19], а також в основу хвоста щурів [20].

Задля формування експериментального алергічного енцефаломієліту використовували гомогенати гомологічного головного мозку, які за енцефалітогенності займають перше місце серед інших препаратів (гомогенати гомологічного, гетерогенного головного

і спинного мозку). У сполучну тканину основи хвоста тварини вводили енцефалітогенну суміш з розрахунку 0,1 мл на 100 г маси тіла. Порівняння отриманих результатів проводили із групою інтактних тварин, якій вводили фізіологічний розчин в тому ж об'ємі. Також для формування патологічного стану енцефалітогенна суміш вводилася в подушечки лап експериментальних тварин (білі щури), але у порівнянні із введенням в основу хвоста цей метод введення не викликав достовірно значущих результатів.

Тактильну алодинію вивчали в модифікації філаментного тесту von Frey шляхом реєстрації тиску, при якому тварини відсмикували ліву задню лапу, уникаючи впливу наростаючих по силі стимулів [21]. Щурів поміщали в плексигласові клітини з дротяним дном, що дозволяв торкатися лап, і давали їм можливість звикнути протягом 10-15 хвилин. Пробу проводили в середині підшви лівій задньої лапи, уникаючи менш чутливих подушечок на підшвах. До лапи підносили набір з 8 волосків von Frey з логарифмічно зростаючою жорсткістю (0,41, 0,69, 1,20, 2,04, 3,63, 5,50, 8,51 і 15,14 м). Волосок фон Фрея прикладали перпендикулярно до середньопідшвенної поверхні в зоні розподілу відростків сідничного нерва та повільно вдавлювали до появи їх вигину.

Оцінку проявів хімічної гіпералгезії проводили з використанням формалінового тесту [22]. Тварин усіх груп привчали до камери спостереження протягом 1 години перед отриманням підшкірної ін'єкції 0,05 мл 0,5% розчину формаліну (Acros organics, США) в тильну поверхню стопи правої задньої кінцівки. Розчин формаліну застосовували через 30 хвилин після закінчення курсу введення тест-зразка. Поведінкові реакції реєстрували відразу ж після підшкірної ін'єкції формаліну в дорсальну поверхню лапки шляхом підрахунку числа здригивань тварини. Спостереження здійснювали протягом 60 хвилин після ін'єкції формаліну і реєстрували як відповіді ранньої фази (0-10 хвилин після ін'єкції формаліну) і відповіді пізньої фази (20-60 хвилин після ін'єкції формаліну).

Вивчення проявів термічної гіпералгезії проводили з використанням тесту «гаряча пластина» [23]. При застосуванні даного тесту тварин по черзі поміщали на пластину, нагріту до 57–58°C; температуру поверхні пластини регулювали термостатом. За секундоміром фіксували час від моменту поміщення тварини на пластину до моменту першого облизування лап (задніх), що і становило латентний період реакції облизування лапок (ЛП РОЛ). Максимальний час перебування тварини на пластині не перевищував 25 секунд.

Результати дослідження та їх обговорення. Для терапії невропатичного больового синдрому при розсіяному склерозі застосовують амітриптілін, ламотриджин, карбамазепін, габапентин, топірамаат, хоча широкомасштабних доказових досліджень ефективності цих препаратів не проводили. Враховуючи зазначене, ми вважали доцільним проведення порівняльного фармакологічного аналізу впливу антиконвульсантів (карбамазепін, топірамаат, натрія вольпроат, габапентин та прегабалін) на прояви

невропатичного больового синдрому за умов експериментального алергічного енцефаломієліту (ЕАЕ).

Оцінку ефективності впливу досліджуваних препаратів на нейрональну сенситизацію, алодинію та гіпералгезію, індуковану експериментальним алергічним енцефаломієлітом, проводили на білих нелінійних щурах, які були розподілені на 7 груп: I – інтактні тварини (пасивний контроль), n=12; II – щури з ЕАЕ (активний контроль), n=12; III – ЕАЕ + метилпреднізолон (М) + карбамазепін (150 мг/кг), n=12; IV – ЕАЕ + М + топірамаат (300 мг/кг), n=12; V – ЕАЕ + М + натрія вальпроат (155 мг/кг), n=12; VI – ЕАЕ + М + габапентин (100 мг/кг), n=6; VII – ЕАЕ + М + прегабалін (100 мг/кг), n=12.

Реєстрацію порогів тактильної та больової чутливості проводили в кожній групі експериментальних тварин з ЕАЕ. Тактильну алодинію вивчали в модифікації філаментного тесту von Frey шляхом реєстрації тиску, при якому тварини відсмикували ліву задню лапу, уникаючи впливу наростаючих по силі стимулів. Оцінку впливу препаратів на прояви хімічної гіпералгезії проводили з використанням формалінового тесту, термічної гіпералгезії – в тесті «гаряча пластина».

Для визначення впливу препаратів на нейрональну сенситизацію, алодинію і гіпералгезію тваринам протягом тижня вводили метилпреднізолон згідно клінічному алгоритму застосування препарату. Крім того, з метою визначення фармакологічної активності антиконвульсантів їх застосовували додатково внутрішньошлунково один раз на добу з другого по 16-й день після індукції ЕАЕ (латентна фаза + клінічна фаза до закінчення піку захворювання).

Показано, що підшкірна інюкація енцефалітогенної суміші викликала розвиток нейрональної сенситизації, алодинії і гіпералгезії. Так, у тварин експериментальних груп після індукції ЕАЕ реєструвалося статистично значиме зниження порогу тактильної чутливості в 2,3 рази (p<0,001) по відношенню до інтактного контролю. При цьому ін'єкція 0,5% розчину формаліну в тильну поверхню стопи щурів призводило до статистично значимого збільшення загальної кількості здригивань в 9,5 рази (p<0,001) по відношенню до групи інтактних тварин. До того ж, у тесті «гаряча пластина» у щурів з ЕАЕ-індукованою невропатією латентний період реакції уникнення статистично значимо знижувався в 1,7 рази (p<0,05) по відношенню до групи інтактного контролю (**табл. 1**).

Результати оцінки проявів алодинії та гіпералгезії після курсового застосування антиконвульсантів за умов ЕАЕ-індукованої невропатії представлені в **табл. 2**.

Встановлено, що у тварин III–VII експериментальних груп після курсового введення протисудом-

Таблиця 1 – Характеристика проявів невропатичного больового синдрому за умов експериментального алергічного енцефаломієліту у щурів

Групи тварин	Тактильна алодинія, поріг відсмикування, г	Формаліновий тест, загальна кількість здригивань	Тест «hot plate», латентний період уникнення, сек
Інтактний контроль (n=12)	12,9±1,40	7,3±0,56	10,5±0,99
ЕАЕ (n=12)	5,7*±0,66	69,6*±6,53	5,9**±0,77

Примітки: * – p<0,001 по відношенню до показників інтактного контролю; ** – p<0,05 по відношенню до показників інтактного контролю.

Таблиця 2 – Зміни тактильної чутливості, хімічної та термічної гіпералгезії у щурів після курсового комбінованого введення метилпреднізолону з антиконвульсантами

Групи тварин	Тактильна алодинія, поріг відсмикування, г	Формаліновий тест, загальна кількість здригувань	Тест «hot plate», латентний період уникнення, сек
Інтактний контроль (n=12)	12,9±1,40	7,3±0,56	10,5±0,99
Активний контроль (n=12)	5,7*±0,66	69,6*±6,53	5,9**±0,77
Карбамазепін, 150 мг/кг (n=12)	7,0±0,67	56,8±6,99	8,7 ^α ±0,56
Топірамат, 300 мг/кг (n=12)	7,8±1,66	49,3±4,57	8,8 ^α ±0,60
Натрію вальпроат, 155 мг/кг (n=12)	8,1±1,53	53,0±4,49	9,0 ^α ±0,82
Габапентин, 100 мг/кг (n=12)	10,2 ^α ±1,63	37,8 ^α ±4,64	9,3 ^α ±0,80
Прегабалін, 100 мг/кг (n=12)	9,7 ^α ±1,80	40,0 ^α ±4,63	9,0 ^α ±0,58

Примітки:

* – p<0,001 по відношенню до показників інтактного контролю;
 ** – p<0,05 по відношенню до показників інтактного контролю;
 α – p<0,05 по відношенню до показників активного контролю.

них засобів при проведенні механічної стимуляції задньої кінцівки реєструвалося підвищення порогу тактильної чутливості по відношенню до показників активного контролю. При цьому здатність зменшувати вираженість тактильної алодинії зменшувалась у ряду габапентин (79%, p<0,05) ≥ прегабалін (70%, p<0,05) > натрію вальпроат (42%, p>0,05) ≥ топірамат (37%, p>0,05) > карбамазепін (23%, p>0,05) (табл. 2).

Відомо, що розвиток стимулзалежного болю, який виникає у відповідь на подразнення сенсibilізованих в результаті пошкодження периферичних ноцицепторів, опосередковується механізмами, обумовленими порушенням процесів гальмування на рівні заднього рогу. Внаслідок збільшення збудливості чутливих нейронів задніх рогів спинного мозку, пов'язаних із зоною іннервації пошкодженого нерва, відбувається сенсibilізація прилеглих інтактних нейронів з розширенням рецептивної зони. Сенсibilізація нейронів задніх рогів приводить до зниження болювого порогу і розвитку аллодинії, тобто появи болювих відчуттів на подразнення, яке в нормі ними не супроводжується [24].

Показано, що після курсового введення антиконвульсантів загальна кількість здригувань, що викликаються ін'єкцією 0,5% розчину формаліну в тильну поверхню стопи ЕАЕ-асоційованих щурів, було меншим, ніж у групі контролю. Так, кількість відповідей ранньої і пізньої фази під впливом габапентину і прегабаліну статистично значимо зменшувалася на 46% (p<0,05) і 43% (p<0,05) відповідно порівняно з показниками тварин контрольної групи. При цьому ослаблення хімічної гіпералгезії після введення карбамазепіну (18%, p>0,05), топірамату (29%, p>0,05) і натрію вальпроату (24%, p>0,05), носило характер помірної тенденції (табл. 2).

Крім того, продемонстровано, що за умов курсового введення карбамазепіну, топірамату, натрію вальпроату, габапентину та прегабаліну реєструвалося статистично значиме збільшення латентного періоду реакції облизування лапок в середньому на

52% (p<0,05) по відношенню до показників контролю (табл. 2).

Як зазначає Н.А. Баринов (2007), на тепловий стимул реагують 4 види ваніллоїдних терморекторів: TRPV-4 і TRPV-3 рецептори, які активуються при температурі 27-35°C і 34-38°C відповідно в закінченнях Руффіні, зв'язаних з мієлінізованими A_δ-аферентами, та TRPV-2 і TRPV-1 рецептори, які активуються при температурі більше 43°C и вище 52°C відповідно на мембранах ноцицепторів немієлінізованих C-аферентів. Пошкодження A_δ-аферентів при невropатії приводить до втрати гальмівних впливів на спінальному рівні та зміні теплового болювого порогу. Тому біль виникає у зв'язку з подразненням TRPV-1 рецепторів при більш низькій, ніж в нормі, температурі внаслідок порушення центрального гальмування [25]. Ймовірно, курсове введення тест-зразків сприяло відновленню структурної організації мієлінізованих A_δ-аферентів, пов'язаних з

ваніллоїдними терморекторами TRPV-4 і TRPV-3, нормалізуючи гальмівні впливи на спінальному рівні і викликаючи центральну модифікацію полімодального сенсорного імпульсу.

Отже, курсове застосування карбамазепіну, топірамату, натрію вальпроату, габапентину і прегабаліну за умов експериментального ЕАЕ-індукованого невropатичного болювого синдрому в різному ступені вираженості викликає відновлення порогів тактильної та болювої чутливості, створюючи сприятливі умови для адекватного проведення імпульсу.

Максимальна вираженість терапевтичного ефекту габапентину і прегабаліну пояснюється, перш за все, їх здатністю зв'язуватися з субодиницею α2δ (альфа-2-дельта) вольтажзалежних кальцієвих N-каналів, розташованих в поверхневій пластинці заднього рогу спинного мозку, які беруть участь у формуванні невropатичного болю. До того ж, антиноцицептивні ефекти зазначених препаратів можуть обумовлюватися гальмуванням вивільнення збуджуючих амінокислот з пресинаптичних закінчень, оскільки при більшості клінічних форм невropатичного болю канали NMDA-рецепторів повністю відкриті, що сприяє кальцієвому інфлюксу, підвищенню неврональної збудливості та генної експресії, внаслідок чого розвивається неврональна сенситизація, алодинія і гіпералгезія.

Ми вважали доцільним проведення порівняльного фармакологічного аналізу впливу амітриптиліну, флуоксетину, пароксетину та тразодону (третіко) на прояви невropатичного болювого синдрому за умов експериментального алергічного енцефаломієліту (ЕАЕ) – експериментального еквіваленту РС.

Оцінку ефективності впливу досліджуваних препаратів на нейрональну сенситизацію, алодинію та гіпералгезію, індуковану експериментальним алергічним енцефаломієлітом, проводили на білих безпорідних щурах, які були розподілені на 6 груп: I – інтактні тварини (пасивний контроль), n=12; II – щури з ЕАЕ (активний контроль), n=12; III – ЕАЕ + метилпреднізолон (М) + амітриптилін (10 мг/кг), n=12; IV – ЕАЕ

+ M + пароксетин (8 мг/кг), n=12; V – EAE + M + флуоксетин (25 мг/кг), n=12; VI – EAE + M + тразодон (40 мг/кг), n=12.

Для визначення впливу препаратів на нейрональну сенситизацію, алодинію і гіпералгізію тваринам протягом тижня вводили солу-медрол згідно клінічному алгоритму застосування препарату. Крім того, з метою визначення фармакологічної активності антидепресантів їх застосовували додатково внутрішньошлунково один раз на добу з другого по 16-й день після індукції EAE (латентна фаза + клінічна фаза до закінчення піку захворювання).

Показано, що підшкірна інюкція енцефалітогенної суміші викликала розвиток нейрональної сенситизації, алодинії і гіпералгізії (рис.).

Зокрема, у тварин експериментальних груп після індукції EAE реєструвалося статистично значиме зниження порогу тактильної чутливості в 2,3 рази (p<0,001) по відношенню до інтактного контролю. При цьому ін'єкція 0,5% розчину формаліну в тильну поверхню стопи щурів призводило до статистично значимого збільшення загальної кількості здригивань в 9,5 рази (p<0,001) по відношенню до групи інтактних тварин. До того ж, у тесті «гаряча пластина» у щурів з EAE-індукованої невropатією латентний період реакції уникнення статистично значимо знижувався в 1,7 рази (p < 0,05) по відношенню до групи інтактного контролю (рис.).

Результати оцінки змін алодинії та гіпералгізії після курсового застосування антидепресантів за умов EAE-індукованої невropатії представлені в табл. 3.

Встановлено, що при проведенні механічної стимуляції задньої кінцівки після курсового введення антидепресантів статистично значиме підвищення порогу алодинії по відношенню до показників активного контролю реєструвалося тільки у тварин II і V експериментальних груп.

Зокрема, здатність зменшувати вираженість тактильної алодинії зменшувалась у ряду амітриптилін (60%, p<0,05) > тразодон (40%, p<0,05) >> флуоксетин (18%, p>0,05) ≈ пароксетин (14%, p>0,05) (табл. 3).

Механізми, пов'язані з порушенням процесів гальмування на рівні заднього рогу, беруть участь у розвитку стимулзалежного болю, що виникає у відповідь на подразнення сенсibilізованих в результаті пошкодження периферичних ноцицепторів [13]. Внаслідок збільшення збудливості чутливих нейронів задніх рогів спинного мозку, пов'язаних із зоною іннервації пошкодженого нерва, відбувається сенсibilізація прилеглих інтактних нейронів з розширенням ре-

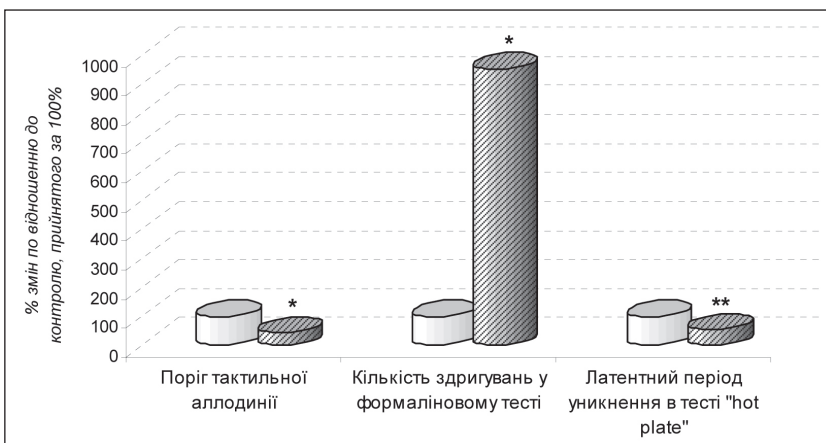


Рисунок – Характеристика проявів невropатичного больового синдрому за умов EAE у щурів.

Примітки:

* – p<0,001 по відношенню до показників інтактного контролю;

** – p<0,05 по відношенню до показників інтактного контролю.

цептивної зони. Сенсibilізація нейронів задніх рогів приводить до зниження больового порогу і розвитку алодинії, тобто появи больових відчуттів на подразнення, яке в нормі ними не супроводжується.

Показано, що після курсового введення антидепресантів загальна кількість здригивань, що викликаються ін'єкцією 0,5% розчину формаліну в тильну поверхню стопи експериментальних щурів, було меншим, ніж у групі контролю. Так, кількість відповідей ранньої і пізньої фази під впливом амітриптиліну статистично значимо зменшувалась на 41% (p<0,05) порівняно з показниками тварин контрольної групи. При цьому ослаблення хімічної гіпералгізії після введення тразодону (21%, p>0,05), носило лише характер тенденції, а застосування флуоксетину і пароксетину практично не впливало на вивільнення медіаторів болю та запалення (табл. 3).

До того ж, за умов курсового введення амітриптиліну, флуоксетину, пароксетину та тразодону статистично значиме збільшення латентного періоду реакції облизування лапок на 49% (p<0,05) по відношенню до показників контролю також реєструвалося тільки після застосування амітриптиліну (табл. 3).

Таблиця 3 – Зміни тактильної чутливості, хімічної та термічної гіпералгізії у щурів після курсового комбінованого введення метилпреднізолону з антидепресантами за умов EAE

Групи тварин	Тактильна алодинія, поріг відсмикування, г	Формаліновий тест, загальна кількість здригивань	Тест «hot plate», латентний період уникнення, сек
Інтактний контроль (n=12)	12,9±1,40	7,3±0,56	10,5±0,99
Активний контроль (n=12)	5,7*±0,66	69,6*±6,53	5,9**±0,77
Амітриптилін, 10 мг/кг (n=12)	9,1±1,30	41,3±4,72	8,8±0,83
Пароксетин, 8 мг/кг (n=12)	6,5±0,63	66,0±4,49	7,2±0,75
Флуоксетин, 25 мг/кг (n=12)	6,7±0,86	61,7±4,80	7,7±0,76
Тразодон, 40 мг/кг (n=12)	8,0±0,50	55,2±6,79	8,0±0,82

Примітки:

* – p<0,001 по відношенню до показників інтактного контролю;

** – p<0,05 по відношенню до показників інтактного контролю;

± – p<0,05 по відношенню до показників активного контролю.

Отже, курсове застосування амітриптиліну і тразодону, але не пароксетину або флуоксетину послаблює індуковані експериментальним алергічним енцефаломієлітом нейрональну сенситизацію, алодинію та гіпералгезію.

Відомо, що одним з напрямків терапії невропатичних больових синдромів є застосування психотропних препаратів, модулюючих опіоїдні і моноамінергічні нейромедіаторні системи. Антидепресанти вважаються препаратами першої черги для лікування такого болю. І хоча їх клінічне застосування супроводжується розвитком ряду побічних ефектів, амітриптилін і нортриптилін мають найбільшу доказову базу при терапії невропатичних больових синдромів: доведена дозозалежна беззаспокійлива дія саме трициклічних антидепресантів щодо алодинії, пекучого і стріляючого болю при РС. Селективні інгібітори зворотного захоплення серотоніну (флуоксетин, пароксетин), незважаючи на менш виражені побічні ефекти, не знайшли широкого застосування через недостатній антиноцицептивний потенціал, а клінічні спостереження за такими антидепресантами, як тразодон, нефазодон і міртазапін свідчать про їх ефективність у терапії невропатичного больового синдрому [13, 14].

Вважається, що антиноцицептивні властивості антидепресантів більш виражені у препаратів, що впливають на як серотонінергічну, так і норадренергічну

нейромедіаторні системи [13], що підтверджують результати нашого дослідження.

Висновки. Таким чином, виходячи з вищевикладеного, можна зробити наступні висновки:

Курсове застосування карбамазепіну, топірама-ту, натрію вальпроату, габапентину і прегабаліну за умов ЕАЕ-індукованого невропатичного больового синдрому викликає нормалізацію тактильної і больової чутливості різного ступеню вираженості.

Здатність послаблювати прояви невропатичного больового синдрому за умов експериментального еквіваленту РС зменшується в ряду габапентин \geq прегабалін $>$ натрію вальпроат \geq топірама-т $>$ карбамазепін.

Курсове застосування амітриптиліну і тразодону, але не пароксетину або флуоксетину за умов ЕАЕ викликає нормалізацію тактильної і больової чутливості різного ступеню вираженості.

Здатність послаблювати прояви невропатичного больового синдрому за умов експериментального алергічного енцефаломієліту зменшується в ряду амітриптилін $>$ тразодон \gg флуоксетин \approx пароксетин.

Перспективи подальших досліджень У подальших дослідженнях було б цікаво розкрити фармакокінетичну взаємодію базової терапії розсіяного склерозу із лікарськими засобами призначених для симптоматичного лікування.

Література

- Cheng Y-C, Snively A, Barrett LB, Xuefei Z, Crystal H, Devlin JF, et al. Topoisomerase I inhibition and peripheral nerve injury induce DNA breaks and ATF3-associated axon regeneration in sensory neurons. *Cell Rep.* 2021;36(10):109666.
- Nefodov O, Dychko Y, Zhytnii M, Chyrkin V. Experimental study of pharmacotherapy of neurological diseases for multiple sclerosis. *Modern Science – Moderní věda.* 2021;5:137-142.
- Kim JA, Bosma RL, Hemington KS, Rogachov A, Osborne NR, Cheng JC, et al. Cross-network coupling of neural oscillations in the dynamic pain connectome reflects chronic neuropathic pain in multiple sclerosis. *Neuroimage Clin.* 2020;26:102230.
- Sedal L, Winkel A, Laing J, Law LY, McDonald E. Current concepts in multiple sclerosis therapy. *Degener Neurol Neuromuscul Dis.* 2017;7:109-125.
- Xu Z, Wu J, Zheng J. Design, synthesis and evaluation of a series of non-steroidal anti-inflammatory drug conjugates as novel neuroinflammatory inhibitors. *Int. Immunopharmacol.* 2015;25(2):528-537.
- Burlaka BS, Belenichev IF, Nosach SG, Nefedov AA. Morpho-functional parameters of neurons in the sensorimotor cortex and neuroapoptosis under conditions of an induced experimental allergic encephalomyelitis in rats and a course of intranasal gel administration containing N-phnylacetyl-L-prolylglycine (noopept). *Journal of Education, Health and Sport.* 2021;11(1):191-201.
- Belenichev IF, Gorchakova NO, Bukhtiyarova NV, Samura IB, Savchenko NV, Nefodov OO, et al. Modulation of HSP70-dependent mechanisms of endogenous neuroprotection with selenium derivatives under conditions of ischemic-type acute cerebrovascular accident modeling. *Pedagogy and Psychology of Sport.* 2020;6(4):99-108.
- Reynolds ES. The use of lead citrate at high pH as an electronopaque stain in electron microscopy. *J. Cell Biol.* 1963;17:208-212.
- Burlaka BS, Belenichev IF, Nefedov OO, Alieva OG, Bukhtiyarova NV. Neuroprotective properties of N-phenylacetyl-L-prolylglycine thyl ester nasal gel in an experimental model of multiple sclerosis equivalent. *Medychni perspektivy.* 2020;4:31-38.
- May ES, Gil Ávila C, Ta Dinh S, Heitmann H, Hohn VD, Nickel MM, et al. Dynamics of brain function in patients with chronic pain assessed by microstate analysis of resting-state electroencephalography. *Pain.* 2021;162(12):2894-2908.
- Pérez-Hernández C, Blasco A, Gándara A, Mañas A, Rodríguez-López MJ, Martínez V, et al. Prevalence and characterization of breakthrough pain in patients with cancer in Spain: the CARPE-DIO study. *Carmen Montoto Sci.* 2019;9:17701.
- Nefodov OO, Mamchur VY. Eksperimentalniy alergichnyy entsefalomielit: osoblivosti zneboyuuyuchoyi terapiyi ta mistse antikonvulsantiv u yakosti analgetikov. *Medichni perspektivi.* 2015;4:4-10. [in Ukrainian].
- Nefedov AA, Mamchur VI. Otsenka antinotsitseptivnogo potentsiala antidepressantov v terapii nevropaticheskoy boli, indutsirovannoy eksperimentalnyim allergicheskim entsefalomielitom. *Bukovynskiy medychniy visnyk.* 2016;1(77):94-98. [in Russian].
- Nefedov AA. Vozmozhnosti farmakologicheskoy korrektsii bolevogo sindroma pri rasseyannom skleroze. *Bukovynskiy medychniy visnyk.* 2015;1(73):232-236. [in Russian].
- Nefodov OO, Miasoied YuP, Solomenko MV, Velykorodna-Tanasiichuk OV, Baklunov VV, Adehova Lla, et al. Farmakolohiya antynotsytseptsiyi v umovakh eksperymental'noho ekvivalenta rozsiyanoho sklerozu. *Visnyk problem biolohii i medytsyny.* 2021;3(161):131-136. [in Ukrainian].
- Zapadnyuk IP, Zapadnyuk VI, Zahariya EA. Laboratornye zhivotnye. Razvedenie, sodержание, ispolzovanie v eksperimente. Kyiv; 1983. 383 s. [in Russian].
- Kozhem'yakin YuM, Hromov OS, Filonenko MA. Naukovo-praktichni rekomendatsiyi z utrimannya laboratornih tvarin ta robot i z nimi. Kyiv; 2002. 155 s. [in Russian].
- Davydova GS, Markov DA. Voprosy napravlennoho modelirovaniya allergicheskogo encefalomiellita. *Demieliniziruyushie zabolevaniya nervnoy sistemy v eksperimente i klinike;* 1975; Minsk. Minsk: «Nauka i tehnika»; 1975. s. 24-33. [in Russian].
- Davydova GS. Primenenie ayuvanta s razlichnym kolichestvom BCZh dlya vosproizvedeniya EAE u krya. *Ostryj encefalomiellit v eksperimente i klinike.* 1969; Minsk. Minsk: «Nauka i tehnika»; 1969. s. 58-63. [in Russian].
- Davydova GS, Markov DS. Hronicheskij eksperimentalnyj allergicheskij encefalomiellita morskikh svinok. *Demieliniziruyushie zabolevaniya nervnoy sistemy v eksperimente i klinike.* 1970; Minsk. Minsk: «Nauka i tehnika»; 1970. s. 193-206. [in Russian].
- Chaplan SR, Bach FW, Pogrel JW. Quantitative assessment of tactile allodynia in the rat paw. *J. Neurosci. Methods.* 1994;53(1):55-63.
- Shibata M, Ohkubo T., Takahashi H. Modified formalin test: characteristic biphasic pain response. *Pain.* 1989;38:347-352.
- Hunskar S, Berge OG, Hole K. A modified hot-plate test sensitive to mild analgesics. *Behavioural Brain Res.* 1986;21:101-108.

24. Nefedov A, Mamchur V. Pharmacological aspects of the use of anticonvulsants as a means of therapy of neuropathic pain syndrome in experimental allergic encephalomyelitis. *Modern Science – Moderní věda*. 2015;5:118-125.
25. Nefedov AA, Mamchur VI. Pharmacological Correction of Neurological Disorders in Case of Multiple Sclerosis. *Galician Medical J*. 2015;22(4):39-41.

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ВИВЧЕННЯ ЛІКУВАННЯ НЕЙРОПАТИЧНОГО БОЛЮ ЗА УМОВ МОДЕЛЮВАННЯ РОЗСІЯНОГО СКЛЕРОЗУ

Нефьодов О. О., М'ясоєд Ю. П., Соломенко М. В., Великородна-Танасійчук О. В.,
Баклунов В. В., Адегова Л. Я., Кузнецова О. В.

Резюме. Проблема нейропатичного болю полягає в тому, що цей тип больового синдрому вкрай важко піддається терапії і не завжди вдається повністю усунути больовий синдром. Нерідко у цих пацієнтів порушується сон, розвивається депресія і тривога, знижується якість життя і працездатність. Багато з них тривалий час терплять біль до того, як починають отримувати адекватну терапію.

Лікування пацієнтів із нейропатичним болем у разі множинних супутніх захворювань — складний мультидисциплінарний процес, який вимагає медикаментозної терапії, психологічної реабілітації та фізіотерапевтичного впливу. Незважаючи на доведену низьку ефективність нестероїдних протизапальних препаратів і анальгетиків у цих хворих, близько $\frac{2}{3}$ з них отримують зазначені препарати. Згідно із сучасними рекомендаціями, габапентиніди (габапентин і прегабалін), трициклічні антидепресанти та інгібітори зворотного захоплення серотоніну і норадреналіну є препаратами першої лінії в терапії у разі нейропатичного болю.

Курсове застосування карбамазепіну, топірамату, натрію вальпроату, габапентину і прегабаліну за умов ЕАЕ-індукованого невропатичного больового синдрому викликає нормалізацію тактильної і больової чутливості різного ступеню вираженості.

Здатність послаблювати прояви невропатичного больового синдрому за умов експериментального еквіваленту РС зменшується в ряду габапентин \geq прегабалін $>$ натрію вальпроат \geq топірамат $>$ карбамазепін. Курсове застосування амітриптиліну і тразодону, але не пароксетину або флуоксетину за умов ЕАЕ викликає нормалізацію тактильної і больової чутливості різного ступеню вираженості. Здатність послаблювати прояви невропатичного больового синдрому за умов експериментального алергічного енцефаломієліту зменшується в ряду амітриптилін $>$ тразодон $>>$ флуоксетин \approx пароксетин.

Ключові слова: експериментальний алергічний енцефаломієліт, розсіяний склероз, нейропатичний біль, знеболення, антиконвульсанти, антидепресанти.

EXPERIMENTAL STUDY OF NEUROPATHIC PAIN TREATMENT UNDER MULTIPLE SCLEROSIS MODELING

Nefodov O. O., Miasoied Yu. P., Solomenko M. V., Velykorodna-Tanasiichuk O. V.,
Baklunov V. V., Adehova L. Ia., Kuznetsova O. V.

Abstract. Treatment of patients with neuropathic pain in the case of multiple concomitant diseases – a complex multidisciplinary process. According to modern recommendations, gabapentinoids (gabapentinoids and pregabalin), tricyclic antidepressants and serotonin reuptake inhibitors and norepinephrine are preparations of the first line in therapy in the case of neuropathic pain.

Purpose of work: By comparative system, analysis and the use of complex methodological approaches to experimentally substantiate ways of pharmacological correction of pain syndrome and medical brain protection under the experimental equivalent of scattered sclerosis.

Object and methods. To study PC we used an experimental model with autoimmune mechanisms of inflammatory demyelination – a model of experimental allergic encephalomyelitis. Tactile alodium was studied in the modification of the filament test Von Frey by registration of pressure, in which the animals were drained by the left back paw, avoiding the effects of growing stimulus. The assessment of manifestations of chemical hyperalgesia was carried out using a formalin test. The study of manifestations of thermal hyperalgesia was performed using a hot plate test.

Results. For the therapy of neuropathic pain syndrome with multiple sclerosis, amitriptylin, lamotrigin, carbamazepine, gabapentin, topiramate is used, although large-scale evidence-based research effects of these drugs was not carried out. Taking into account the indicated, we considered appropriate to conduct a comparative pharmacological analysis of the influence of anticonvulsants (carbamazepine, topiramate, sodium valproate, gabapentin and pregabalin) on manifestations of neuropathic pain syndrome in conditions of experimental allergic encephalomyelitis. It is shown that after the course administration of anticonvulsants, the total amount of fragments caused by an injection of 0.5% formalin solution in the back surface of the EAE-associated rats was smaller than in the control group.

Thus, the number of responses of the early and late phase under the influence of gabapentin and pregabalin is statistically significantly reduced by 46% ($p < 0.05$) and 43% ($p < 0.05$), respectively. In this case, the weakening of chemical hyperalgesia after the administration of carbamazepine (18%, $p > 0.05$), topiramate (29%, $p > 0.05$) and sodium of valproate (24%, $p > 0.05$), was the nature of a moderate tendency. The ability to reduce the severity of tactile alodium decreased in a number of amitriptyline (60%, $p < 0.05$) $>$ trazodone (40%, $p < 0.05$) $>>$ fluoxetine (18%, $p > 0.05$) \approx paroxetine (14%, $p > 0.05$).

Conclusions. Course use of carbamazepine, topiramate, sodium valproate, gabapentin and pregabalin under the conditions of EAE-induced neuropathic pain syndrome causes normalization of tactile and pain sensitivity of varying degrees of severity. The ability to weaken the manifestations of neuropathic pain syndrome under the conditions of experimental equivalent of RS decreases in a number of gabapentin \geq Pregabalin $>$ sodium valproate \geq Topiramate $>$ Carbamazepine.

Course application of amitriptyline and trazodone, but not paroxetine or fluoxetine under conditions of EAE causes normalization of tactile and pain sensitivity of varying degrees of severity. The ability to weaken the manifestations of neuropathic pain syndrome in the conditions of experimental allergic encephalomyelitis decreases in a series of amitriptyline > trazodone >> fluoxetine ≈ paroxetine.

Key words: experimental allergic encephalomyelitis, multiple sclerosis, neuropathic pain, anesthesia, anticonvulsants, antidepressants.

ORCID кожного автора та їх внесок до статті:

Nefodov O. O.: 0000-0002-5796-1852 ^{ABCD}

Miasoied Yu. P.: 0000-0003-3166-2608 ^{BC}

Solomenko M. V.: 0000-0001-6574-923X ^{CF}

Velykorodna-Tanasiichuk O. V.: 0000-0003-4761-3894 ^{BC}

Baklunov V. V.: 0000-0003-4982-1523 ^{CD}

Adehova L. Ia.: 0000-0003-3234-0977 ^{CF}

Kuznetsova O. V.: 0000-0002-1013-2475 ^{BC}

Конфлікт інтересів:

Автори статті підтверджують відсутність конфлікту інтересів.

Адреса для кореспонденції

Нефьодов Олександр Олександрович

Дніпровський медичний інститут традиційної і нетрадиційної медицини

Адреса: Україна, 49000, м. Дніпро, вул. Севастопольська 17

Тел.: +380731324363

E-mail: nefedov2406@gmail.com

A – концепція роботи та дизайн, **B** – збір та аналіз даних, **C** – відповідальність за статичний аналіз, **D** – написання статті, **E** – критичний огляд, **F** – остаточне затвердження статті.

Рецензент – доц. Луценко Р. В.

Стаття надійшла .2021 року

Стаття прийнята до друку .2021 року