

ISSN 1814-6023 (Print)

ISSN 2524-2350 (Online)

УДК 547.327:547.295.9:612.884

<https://doi.org/10.29235/1814-6023-2022-19-4-364-374>

Поступила в редакцию 13.09.2022

Received 13.09.2022

А. С. Доронькина¹, А. Л. Михальчук², С. В. Губкин¹, А. Ю. Молчанова¹, В. Г. Богдан³

¹Институт физиологии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

²Институт биоорганической химии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

³Отделение медицинских наук НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

ВЛИЯНИЕ АМИДОВ ЖИРНЫХ КИСЛОТ С ЭТАНОЛАМИНОМ И ГЛИЦИНОМ НА НОЦИЦЕПТИВНЫЕ РЕАКЦИИ И ПАРАМЕТРЫ ПОХОДКИ КРЫС В НОРМЕ И ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ МОНОНЕЙРОПАТИИ

Аннотация. Изучено влияние амидов жирных кислот с этаноламином и глицином на паттерны походки и ноцицептивные реакции у здоровых крыс и крыс с экспериментальной периферической нейропатией. Показано, что при купировании нейропатической боли и восстановлении параметров походки пальмитоилэтаноламид и стеароилэтаноламид более эффективны, чем пальмитамид глицина.

Ключевые слова: пальмитоилэтаноламид, стеароилэтаноламид, пальмитамид глицина, ноцицептивная чувствительность, паттерны походки, CatWalk

Для цитирования: Влияние амидов жирных кислот с этаноламином и глицином на ноцицептивные реакции и параметры походки крыс в норме и при экспериментальной периферической мононейропатии / А. С. Доронькина [и др.] // Вес. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. мед. наук. – 2022. – Т. 19, № 4. – С. 364–374. <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2022-19-4-364-374>

Anastasya S. Doronkina¹, Alexander L. Mikhalechuk², Sergey V. Goubkin¹, Alla Yu. Molchanova¹, Vasily G. Bogdan³

¹Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

²Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

³Department of Medical Sciences of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

EFFECTS OF FATTY ACID AMIDES WITH ETHANOLAMINE AND GLYCINE ON NOCICEPTIVE REACTIONS AND GAIT PARAMETERS IN RATS IN NORMAL AND EXPERIMENTAL PERIPHERAL MONONEUROPATHY

Abstract. The effects of fatty acid amides ethanolamine and glycine on gait patterns and nociceptive reactions was investigated after injections of these fatty acid derivatives in healthy rats and in rats with experimental peripheral neuropathy. It has been proven that palmitoylethanolamide and the stearoylethanolamide are more effective at relieving neuropathic pain and restoring gait parameters than glycine palmitamide.

Keywords: palmitoylethanolamide, stearoylethanolamide, palmitoylglycine, nociceptive sensitivity, gait patterns, CatWalk

For citation: Doronkina A. S., Mikhalechuk A. L., Goubkin S. V., Molchanova A. Y., Bogdan V. G. Effects of fatty acid amides with ethanolamine and glycine on nociceptive reactions and gait parameters in rats in normal and experimental peripheral mononeuropathy. *Vestsi Natsyynal'nai akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2022, vol. 19, no. 4, pp. 364–374 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2022-19-4-364-374>

Введение. Ходьба – сложный двигательный акт, требующий согласованной работы центральных мозговых структур, проводящих путей, периферических нервов, мышц корпуса и конечностей. Вовлечение нервных структур разного уровня в осуществление и контроль двигательных актов обуславливает разнообразие этиологических факторов нарушения последних. Многие неврологические и некоторые ортопедические заболевания сопровождаются развитием типичных изменений походки. Одной из таких патологий является нейропатия вследствие поражения периферических нервов. Периферическая нейропатия может развиваться на фоне интоксикаций (злоупотребление алкоголем, химиотерапия), эндокринных (сахарный диабет), инфекционных (ВИЧ, клещевой боррелиоз) или соматических заболеваний и проявляется расстройствами чувствительности и двигательных функций. Повреждение периферических нервов может сопровождаться ощущением онемения конечности или, наоборот, проявляться периодическими жгучими болями. Кроме того, нарушение иннервации мышц приводит к их дисфункции

и даже атрофии, что, как и измененная чувствительность, сказывается на походке. Примером патологических изменений походки при периферических нейропатиях является развитие пареза стопы. Тяжесть изменения походки служит одним из критериев выбора тактики лечения неврита или полинейропатии, а в лабораторных исследованиях считается дополнительным параметром определения эффективности предлагаемых методик в экспериментальных моделях артрита, нейропатии, ишемии и т. д. [1].

Одним из перспективных направлений разработки новых фармакологических препаратов для ослабления боли и других последствий повреждения периферических нервов считается изучение физиологических эффектов амидов жирных кислот (FAA) с этаноламином и аминокислотами. Указанные соединения участвуют в модуляции высвобождения нейротрансмиттеров и функционировании клеточных энергетических систем и способны оказывать протекторное действие при патологических процессах и состояниях, сопровождающихся болью и воспалением [2]. К наиболее изученным представителям этого ряда липидов можно отнести пальмитоилэтаноламид (PEA), стеароилэтаноламид (SEA), пальмитамид глицина (PalGly) [3–5].

Авторами работы ранее были получены данные об обезболивающем действии PEA и SEA в дозе 750 мг/кг [5] и PalGly в дозе 2,5 мкмоль/кг [2] на порог ноцицептивной реакции (ПНР) и латентный период ноцицептивной реакции (ЛПНР) у интактных крыс. Также однократное предварительное (за 1 ч до измерения) болюсное внутривентральное введение PEA в аналогичной дозе на 7-е и 14-е сутки существенно ослабляло вызванную лигированием седалищного нерва термическую и механическую гипералгезии, на 21-е сутки ЛПНР и ПНР у таких животных возвращались к контрольным значениям [6]. Болюсная инъекция 750 мкг/кг SEA на 7-е сутки после моделирования мононейропатии достоверно увеличивала значения исследуемых показателей. Полученные данные свидетельствуют о выраженном антиноцицептивном действии SEA и PEA при моделировании как острой, так и нейропатической боли. Антиноцицептивный эффект SEA при моделировании мононейропатии сравним с таковым у PEA [6].

Антиноцицептивное действие указанных субстанций доказано, в том числе и в более ранних наших исследованиях [2, 7], тогда как их влияние на походку в норме и при экспериментальной нейропатии еще не изучено.

Цель настоящей работы – регистрация и сравнение паттернов походки и параметров ноцицептивных реакций крыс после введения производных жирных кислот (пальмитоилэтаноламида, стеароилэтаноламида и пальмитамид глицина) у здоровых крыс и крыс с экспериментальной периферической нейропатией.

Материалы и методы исследования. *Исследуемые вещества.* PEA (Sigma-Aldrich, США), SEA и PalGly (синтезированы в лаборатории химии липидов ИБОХ НАН Беларуси). FAA являются гидрофобными соединениями, что создает дополнительные трудности при использовании экспериментальных субстанций. В ряде статей показано, что Твин 80 является хорошим растворителем для липофильных соединений [8–10]. В связи с этим соединения растворяли в смеси, состоящей из этанола, Твина 80 и апирогенного физиологического раствора в соотношении 1:1:8.

Эксперименты выполнены на 65 крысах-самцах стока Вистар массой 210–230 г. Крысы были разделены на группы: Интактные + PEA ($n = 7$), Интактные + SEA ($n = 7$), Интактные + PalGly ($n = 7$), Лигирование седалищного нерва (далее – Лигирование) ($n = 10$), Лигирование + PEA ($n = 10$), Лигирование + SEA ($n = 10$), Лигирование + PalGly ($n = 7$), Лигирование + растворитель ($n = 7$). Однократное введение исследуемых препаратов осуществляли внутривентрально в дозе 1,5 мг/кг в 1 мл растворителя на 1-е сутки для интактных и на 7-е сутки для животных с нейропатией после проведения тестов на ноцицептивную чувствительность и регистрации паттернов походки. Контролем служила группа животных, которым внутривентрально вводили растворитель из расчета 1 мл/кг. Животных содержали в виварии Института физиологии НАН Беларуси в соответствии с установленными нормами [7]. Крысы находились на одинаковом стандартном рационе и имели свободный доступ к воде и пище. Световой режим в условиях вивария обеспечивали автоматической сменой освещения «день/ночь» каждые 12 ч. Все манипуляции с животными осуществляли с соблюдением «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов» (Страсбург, Франция, 1986) [11].

Моделирование периферической нейропатии осуществляли путем тройного лигирования седалищного нерва на уровне верхней трети бедра до трифуркации [2, 12]. С помощью теста Рандалла–Селитто фиксировали ПНР, а именно минимальное давление вершины пластикового конуса на стопу экспериментального животного в граммах, при котором отмечали специфическую болевую реакцию (отдергивание лапы или вокализацию). При применении теста *hot plate* измеряли ЛПНР – время с момента помещения животного на горячую (50 °С) пластинку до осуществления ноцицептивной реакции в секундах (облизывание задней лапы, вокализация, попытка выпрыгнуть из камеры).

Анализ параметров походки был проведен с использованием аппаратно-программного комплекса CatwalkTX (Noldus, Нидерланды). В данном комплексе зеленый свет отражается от стеклянной пластины, на которой установлен закрытый коридор с красной подсветкой над ним. Видеокамеру размещали под установкой на расстоянии 56 см и регистрировали отпечатки лап, освещенные зеленым светом, во время соприкосновения со стеклянной пластиной [13, 14]. Пробег считался удачным, когда крыса входила в коридор и плавно перемещалась по пластине к выходу в другом конце коридора, при этом продолжительность пробега составляла менее 5 с, а максимальное отклонение – менее 75 %. Для каждого животного было зарегистрировано по три соответствующих пробега в каждой временной точке эксперимента.

При обработке статистических данных у здоровых животных вычисляли среднее арифметическое значение показателей ПНР между правой и левой задними конечностями, ЛПНР и показателей походки, а у животных с нейропатией седалищного нерва данные показатели обрабатывали и графически представляли отдельно для ипсилатеральной и контрлатеральной конечности.

На основе анализа литературных источников для оценки походки нами были выбраны следующие параметры: интенсивность отпечатка, длительность стойки (с), длина отпечатка (см), ширина отпечатка (см), площадь отпечатка (см²), максимальная площадь контакта (см²), скорость переноса лапы (см/с), скорость пробега (см/с) [15]. Для увеличения наглядности на графиках приведены проценты изменения показателей, а не их значения.

Тесты на ноцицептивную чувствительность и регистрацию параметров походки проводили до операции и на 7, 14, 21, 30 и 60-е сутки, для каждого животного трехкратно с интервалом 5–7 мин, полученные данные усредняли.

Анализ данных выполняли с помощью программ Microsoft Excel, Origin и Statistica 10. Проверку гипотезы о нормальном распределении количественных показателей осуществляли с помощью программы Origin 7.0 по критерию Шапиро–Уилка ($p < 0,05$). Данные представлены в виде медианы (Me) и интервального размаха с указанием 25-го и 75-го перцентилей. Статистическую значимость количественных признаков определяли с помощью непараметрических тестов: Уилкоксона для зависимых выборок и Манна–Уитни для независимых выборок в парных сравнениях. Для анализа взаимосвязи двух количественных признаков использовали метод ранговой корреляции Спирмена. Изменения считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. Однократная внутрибрюшинная инъекция каждого из исследуемых FAA в дозе 1,5 мг/кг здоровым животным приводила к статистически значимому увеличению усредненного ПНР обеих задних конечностей. Через 1 ч после введения PEA, SEA или PalGly ПНР достоверно увеличивался на 16,8 % ($p < 0,02$), 18,1 % ($p < 0,01$) и 12,7 % ($p < 0,01$) соответственно по сравнению с исходными данными (табл. 1, рис. 1).

Изменения ЛПНР, зарегистрированные в тесте *hot plate*, также были статистически значимыми во всех группах. У животных через 1 ч после введения PEA было отмечено увеличение ЛПНР на термический стимул на 21,7 % ($p < 0,02$), после инъекции SEA – на 25,3 % ($p < 0,01$) и после PalGly – на 33,6 % ($p < 0,01$) (рис. 1). При этом следует отметить, что анальгезирующий эффект, вызванный введением PalGly, в тесте *hot plate* был достоверно выше, чем у животных, которым вводили PEA и SEA в аналогичной дозе (см. табл. 1).

Несмотря на однонаправленность эффектов изучаемых субстанций на ноцицептивные реакции крыс, они по-разному влияли на исследуемые параметры походки. Из всех трех веществ достоверное увеличение (на 21,9 %, $p < 0,04$) ширины отпечатков задних конечностей по сравне-

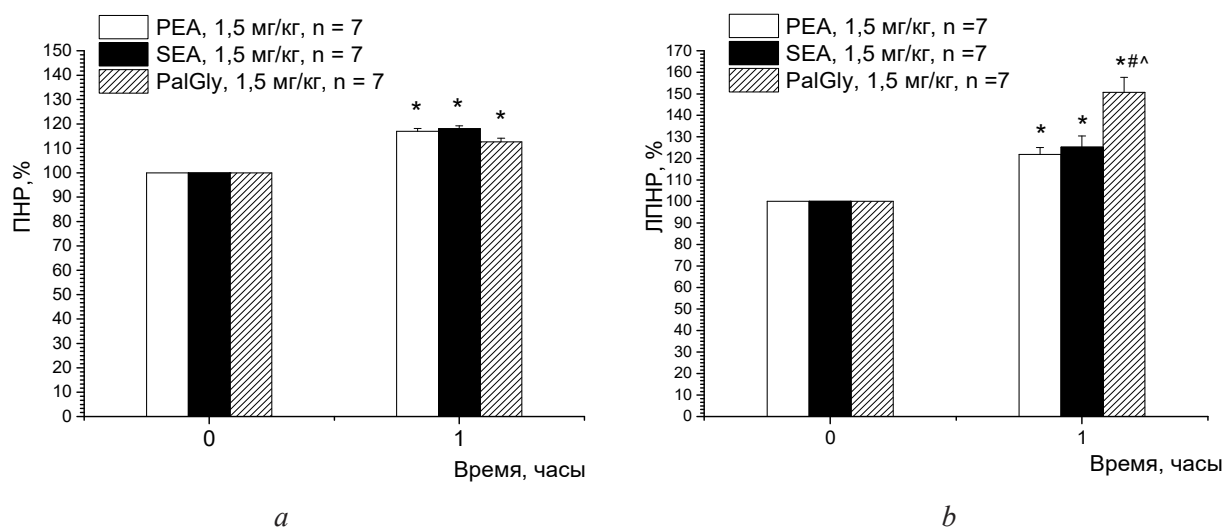


Рис. 1. Изменение усредненного порога ноцицептивной реакции задних конечностей (а) и латентного периода ноцицептивной реакции (b) у здоровых крыс через 1 ч после внутрибрюшинного введения FAA (PEA, SEA и PalGly).

Достоверность различий ($p < 0,05$): * – по сравнению со значениями до введения (0), # – по сравнению со значениями в группе Интактные + PEA, ^ – по сравнению со значениями в группе Интактные + SEA

Fig. 1. Change in of the period of the nociceptive reaction of the hind limbs (a) and the latent period of the nociceptive reaction (b) shown as a percentage of values before injection during the follow-up period of 1 hour after intraperitoneal injection of FAA (PEA, SEA, and PalGly) in healthy rats. Significance of differences ($p < 0.05$): * – compared to the values before injection (0), # – compared to the Intact + PEA group, ^ – compared to the Intact + SEA group

нию со значениями до введения отмечено исключительно в группе после инъекции SEA (рис. 2, табл. 1).

Достоверное увеличение скорости переноса задних конечностей на 16,6 % ($p < 0,02$) (рис. 3, a) и скорости пробега на 29,1 % ($p < 0,05$) (рис. 3, b) было вызвано только внутрибрюшинной инъекцией PalGly в дозе 1,5 мг/кг ($n = 8$) (см. табл. 1).

Резюмируя изложенное выше, отметим, что применение FAA (PEA, SEA и PalGly) в одинаковых условиях эксперимента приводило к схожему анальгезирующему эффекту, что отразилось на показателях ноцицептивных реакций. Однако при регистрации походки на интенсивность отпечатка больше влияло SEA, а на скорость пробега крыс – PalGly. Выбранные нами показатели походки, такие как длительность стойки, максимальная площадь контакта и интенсивность отпечатка достоверно не изменялись в ходе эксперимента.

На втором этапе эксперимента было проведено моделирование у крыс периферической нейропатии посредством лигирования седалищного нерва. На 7-е сутки после моделирования соответствующей патологии у лабораторных животных отмечалось статистически значимое понижение ПНР ипсилатеральной (поврежденной) конечности на 29,3 % ($p < 0,0002$) по сравнению с его уровнем до операции. В то же время при проведении соответствующего теста подобного эффекта как на контрлатеральной (неповрежденной) (рис. 4, a), так и на обеих задних конечностях в группе Лигирование + растворитель обнаружено не было (табл. 2).

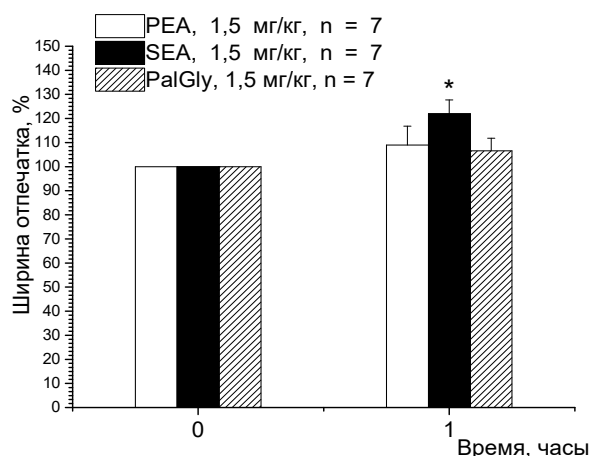


Рис. 2. Изменение усредненной ширины отпечатка задних лап у здоровых крыс через 1 ч после внутрибрюшинного введения FAA (PEA, SEA и PalGly). * – $p < 0,05$ по сравнению со значениями до введения

Fig. 2. Change in the averaged width of the hind paw print shown as a percentage of values before injection during the follow-up period of 1 hour after intraperitoneal injection of FAA (PEA, SEA, and PalGly).

* – $p < 0.05$ – compared to the values before injection

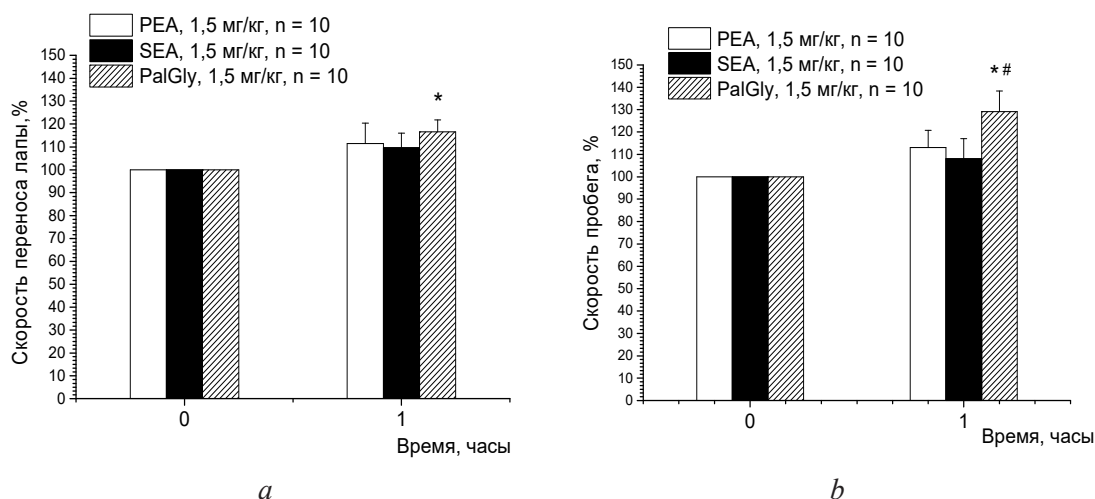


Рис. 3. Изменение усредненной скорости переноса задних конечностей (а) и скорости пробега (б) у здоровых крыс через 1 ч после внутривнутрибрюшинного введения FAA (PEA, SEA и PalGly). Достоверность различий ($p < 0,05$): * – по сравнению со значениями до введения (0), # – по сравнению с группой Интактные + PEA

Fig. 3. Change in limb transfer rates (a) and mileage rates (b) shown as a percentage of values before injection during the follow-up period of 1 hour after intraperitoneal injection of FAA (PEA, SEA, and PalGly). Significance of differences ($p < 0.05$): * – compared to the values before injection (0), # – compared to the Intact + PEA group

Т а б л и ц а 1. Динамика изменения усредненных значений ноцицептивной чувствительности и параметров обеих задних конечностей у интактных крыс до и через 1 ч после внутривнутрибрюшинного введения FAA (PEA, SEA and PalGly) в дозе 1,5 мг/кг, Ме [25 %–75 %]

Table 1. Change dynamics of the averaged values of the nociceptive reactions and the gait of the both hind limb rates before injection during the follow-up period of 1 hour after intraperitoneal injection of FAA (PEA, SEA, and PalGly) at a dose of 1.5 mg/kg, Ме [25 %–75 %]

Время эксперимента	PEA	SEA	PalGly
ПНР, г			
До введения FAA	125,0 (122,0–127,0)	127,0 (123,0–129,5)	125,5 (121,8–128,3)
После введения FAA	148,0 (142,0–151,0)*	151,5 (148,8–154,0)*	140,5 (135,8–144,3)*
ЛПНР, с			
До введения FAA	22,1 (20,3–23,7)	23,3 (22,3–23,9)	23,3 (18,1–24,9)
После введения FAA	26,8 (25,5–28,1)*	28,4 (24,9–32,5)*	34,5 (28,3–37,7)*#^
Ширина отпечатка, см			
До введения FAA	1,2 (0,9–1,5)	1,3 (1,2–1,4)	1,6 (1,4–1,7)
После введения FAA	1,6 (1,1–1,8)	1,6 (1,6–1,7)*	1,7 (1,5–1,9)
Скорость пробега, см/с			
До введения FAA	23,2 (20,2–25,3)	24,7 (23,3–25,0)	19,6 (18,9–21,1)
После введения FAA	24,5 (22,3–28,5)	28,9 (24,7–29,6)	25,8 (23,2–30,8)*#
Скорость переноса лапы, см/с			
До введения FAA	62,9 (62,7–86,9)	86,9 (78,9–92,9)	88,1 (83,8–94,6)
После введения FAA	86,5 (70,0–91,5)	90,9 (86,7–104,4)	103,6 (99,8–109,1)*

П р и м е ч а н и е. Достоверность различий ($p < 0,05$): * – по сравнению со значениями до введения (0), # – по сравнению с группой Интактные + PEA, ^ – по сравнению с группой Интактные + SEA.

Лигирование седалищного нерва на 7-е сутки также приводило к достоверному снижению ЛПНР на 34,5 % ($p < 0,005$). Изложенное выше свидетельствует о развитии механической и термической гипералгезии, характерной для данной экспериментальной модели (рис. 4, б; табл. 2).

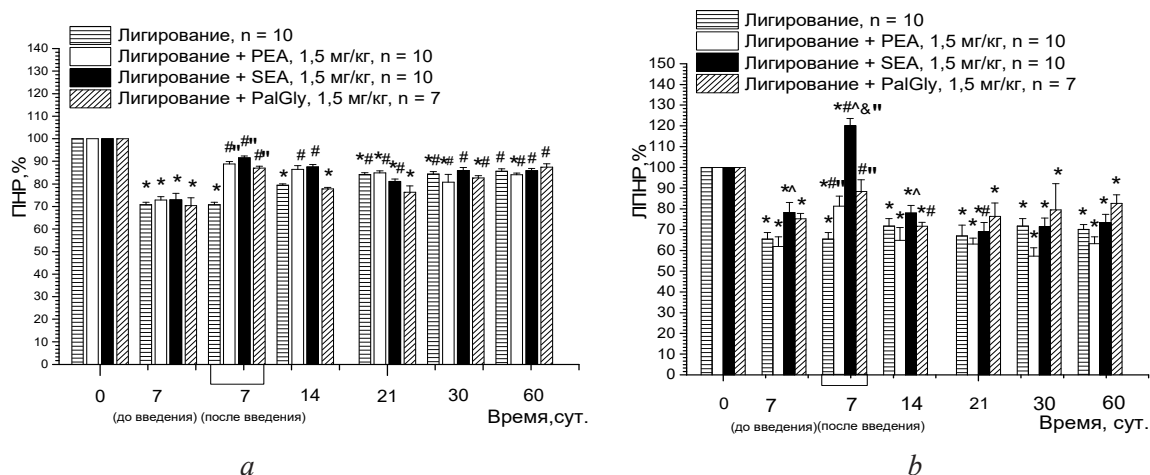


Рис. 4. Изменение порога ноцицептивной реакции ипсилатеральной конечности (а) и латентного периода ноцицептивной реакции (b) у крыс с периферической нейропатией после внутрибрюшинного введения FAA (PEA, SEA и PalGly). Скобкой отмечено время введения веществ. Достоверность различий ($p < 0,05$):

* – по сравнению со значениями до операции (0), # – по сравнению со значениями на 7-е сутки до введения, ^ – по сравнению с контрольной группой, ^ – по сравнению с группой Лигирование + PEA, & – по сравнению с группой Лигирование + PalGly

Fig. 4. Change in the threshold of the nociceptive reaction of ipsilateral limb (A) and the latent period of nociceptive reaction (B) in rats with peripheral neuropathy after intraperitoneal injection of FAA (PEA, SEA, and PalGly).

The administration time of substances is marked with a bracket. Significance of differences ($p < 0.05$):

* – compared to the values before surgery, # – compared to the values on the 7th day before injection, compared to the control group, ^ – compared to the Ligation + PEA group, & – compared to the Ligation + PalGly group

Применение FAA на 7-е сутки вызывало достоверное увеличение ПНР в ипсилатеральной конечности у крыс с нейропатией: при введении PEA – на 22,8 % ($p < 0,005$), при введении SEA и PalGly – на 26,2 % ($p < 0,007$) и 24,7 % ($p < 0,02$) соответственно по сравнению со значениями до введения (рис. 4, a).

Также после введения исследуемых субстанций FAA были зарегистрированы достоверные изменения ЛПНР. Анальгезирующая активность PEA в этом тесте ($n = 10$) составила 31,7 % ($p < 0,005$) по отношению к значениям до введения, SEA вызвал более выраженное повышение ЛПНР – на 53,3 % ($p < 0,007$), тогда как у крыс, которым вводили PalGly, ЛПНР возрос лишь на 17,4 % ($p < 0,04$). Однако, согласно полученным данным, при применении каждого из исследуемых веществ восстановления данного показателя до исходных значений не происходило (рис. 4, b; табл. 2).

При регистрации показателей походки у животных с нейропатией отмечено снижение интенсивности контакта с платформой (на 17,5 %, $p < 0,02$) и площади отпечатка (на 30,6 %, $p < 0,05$) ипсилатеральной конечности на 7-е сутки после операции, что совпадает с началом нарастания механической гипералгезии. В то же время при анализе указанных показателей контрлатеральной конечности подобного эффекта не обнаружено.

Через 1 ч после введения FAA на фоне вызванной лигированием нерва гипералгезии отмечено достоверное увеличение площади отпечатка: на 31,5 % – для PEA ($p < 0,03$), на 32,8 % – для SEA ($p < 0,02$), на 15,4 % – для PalGly ($p < 0,05$) (рис. 5, a). Также было зафиксировано статистически значимое увеличение интенсивности отпечатка ипсилатеральной конечности на 16,9 % ($p < 0,02$), 18,5 % ($p < 0,02$) и 12,1 % ($p < 0,02$) по сравнению со значениями до введения PEA, SEA или PalGly соответственно (рис. 5, b).

Скорость переноса ипсилатеральной конечности возрастала по сравнению со значениями до введения FAA: для PEA – на 21,1 % ($p < 0,02$), для SEA – на 22,3 % ($p < 0,05$) и для PalGly – на 24,2 % ($p < 0,02$) (рис. 6). Схожая динамика была отмечена при анализе ширины и длины отпечатка ипсилатеральной конечности после введения анализируемых веществ в дозе 1,5 мг/кг, однако указанные показатели изменялись недостоверно. Применение растворителя не приводило к достоверным изменениям показателей походки у крыс с периферической нейропатией, что в свою очередь согласуется с показателями ноцицептивной чувствительности (см. табл. 2).

Таблица 2. Динамика изменений показателей ноцицептивной реакции и параметров походки у крыс с периферической нейропатией после внутрибрюшинного введения FAA (PEA, SEA и PalGly) в дозе 1,5 мг/кг, Me [25 %–75 %]

Table 2. Change dynamics of nociceptive reactions and gait patterns in rats with peripheral neuropathy after intraperitoneal injection of FAA (PEA, SEA, and PalGly) at a dose of 1.5 mg/kg, Me [25 %–75 %]

Сутки	Группа	Лигирование	Лигирование + растворитель	Лигирование + PEA	Лигирование + SEA	Лигирование + PalGly
ПНР, г						
0-е		127 (123–130)	127 (124–130)	132 (127–135)	124 (121–129)	127 (123–132)
7-е:	до введения	90 (87–93)*	81 (74–87)*	95 (91–100)*	88 (85–98)*	88 (81–93)*
	после введения	–	80 (76–88)*	115 (112–120) [#] **	115 (111–117) [#] **	110 (109–113) [#] **
14-е		102 (99–103)*	86 (75–92)*	112 (110–118) [#]	110 (106–112) [#]	98 (95–104)*
21-е		108 (104–109) ^{*#}	92 (85–99)*	111 (110–113) ^{*#}	101 (97–105) ^{*#}	94 (89–106)*
30-е		106 (104–110) ^{*#}	80 (75–86)*	109 (106–113) ^{*#}	109 (104–112) [#]	106 (101–110) ^{*#}
60-е		109 (107–111) [#]	87 (79–92)*	111 (108–112) ^{*#}	107 (104–110) [#]	111 (107–114) [#]
ЛПНР, с						
0-е		20 (18–21)	23 (20–27)	21 (19–23)	22 (19–23)	19 (16–22)
7-е:	до введения	13 (11–14)*	13 (11–15)*	12 (11–15)*	16 (15–18) ^{*^}	14 (13–15)*
	после введения	–	14 (9–15)*	16 (15–18) ^{*#} **	27 (23–28) ^{*#&^} **	17 (16–19) [#] **
14-е		14 (13–15)*	14 (12–16)*	13 (11–15)*	16 (15–18) ^{*^}	14 (13–15) ^{*#}
21-е		13 (12–15)*	12 (11–14)*	13 (11–15)*	15 (13–15) ^{*#}	14 (13–16)*
30-е		13 (13–15)*	15 (13–16)*	11 (10–13)*	15 (13–17)*	10 (21–14)*
60-е		13 (13–15)*	15 (12–16)*	13 (12–14)*	16 (14–17)*	16 (14–18)*
Площадь отпечатка ипсилатеральной конечности, см ²						
0-е		1,2 (0,9–1,2)	1,0 (0,9–1,5)	0,7(0,5–0,8)	0,9 (0,8–1,4)	0,8 (0,7–0,9)
7-е:	до введения	0,7 (0,7–0,8)*	0,9 (0,8–1,0)	0,6 (0,4–0,7)	0,8 (0,5–0,9)	0,6 (0,5–0,6)*
	после введения	–	0,8 (0,7–0,9)*	0,9(0,7–1,0) ^{#&}	1,1 (1,0–1,3) ^{#&}	0,5 (0,5–0,8)*
14-е		0,8 (0,6–1,0)*	0,9 (0,7–0,9)	0,8(0,6–1,0) ^{&}	0,9 (0,6–1,2)	0,5 (0,5–0,6)*
21-е		0,9 (0,7–0,9)*	0,9 (0,8–1,1)	0,7 (0,6–0,8) [^]	0,9 (0,7–0,9)	0,7 (0,3–0,8)*
30-е		0,9 (0,7–1,2)	1,0 (0,8–1,0)	0,6 (0,5–0,8) ^{&}	0,7 (0,6–0,9)	0,6 (0,3–0,8)*
60-е		0,9 (0,7–0,9)*	0,8 (0,7–1,3)	0,6 (0,5–0,7)	0,8 (0,7–0,9)	0,6 (0,6–0,8)
Интенсивность отпечатка, а. е.						
0-е		189 (179–195)	201 (181–203)	171 (156–180)	174 (156–178)	153 (142–170)
7-е:	до введения	144 (139–149)*	162 (148–168)*	149 (127–159)*	139 (133–147)*	138 (116–149)*
	после введения	–	162 (159–169)*	167 (157–186) [#] **	176 (147–187) [#] **	151 (126–167)
14-е		153 (137–178)*	169 (163–179)*	177 (124–186)	154 (108–187)	133 (116–151)
21-е		148 (139–167)*	185 (144–195)	152 (115–168)	148 (137–172)	138 (129–143)
30-е		147 (136–161)	185 (142–196)	149 (121–164)*	145 (136–167)	141 (126–169)
60-е		134 (129–181)*	173 (169–178)*	170 (134–179)	158 (136–164)	156 (108–182)
Скорость переноса лапы, см/с						
0-е		97 (90–107)	104 (96–109)	95 (80–105)	96 (87–117)	102 (94–115)
7-е:	до введения	91 (86–102)	92 (85–92)*	85 (73–91)	97 (81–101)	87 (65–97)*
	после введения	–	85 (78–91)*	104 (92–117) ^{#&}	104 (100–109) [#]	109 (104–114)
14-е		100 (93–102)	89 (71–105)	102 (86–108) [#]	95 (88–103)	94 (82–98)*
21-е		96 (88–98)	87 (76–97)*	100 (90–108) [#]	87 (73–110)*	90 (79–102)*
30-е		96 (81–117)	89 (81–90)*	100 (95–111) [#]	90 (82–98)*	103 (95–110)
60-е		98 (93–103)	106 (97–108)	107 (95–112) [#]	95 (90–106)	99 (71–128)

Примечание. Достоверность различий ($p < 0,05$): * – по сравнению со значениями до операции, # – по сравнению со значениями на 7-е сутки, ** – по сравнению с контрольной группой, ^ – по сравнению с группой Лигирование + PEA, & – по сравнению с группой Лигирование + PalGly.

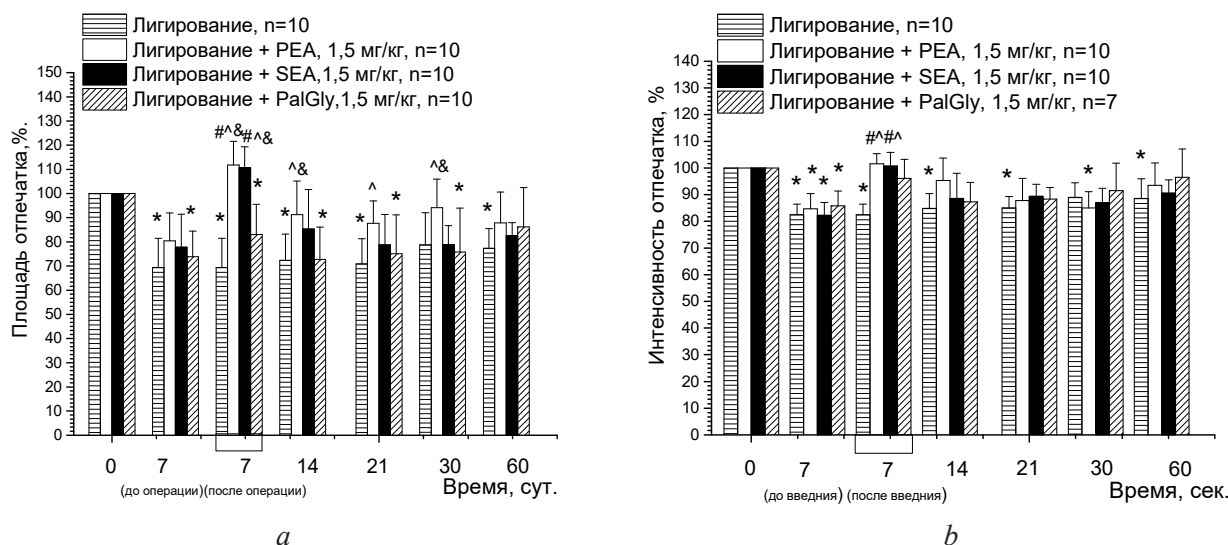


Рис. 5. Изменение площади (а) и интенсивности (б) отпечатка ипсилатеральной конечности у крыс с периферической нейропатией после внутривентриального введения FAA (PEA, SEA и PalGly) в дозе 1,5 мг/кг. Скобкой отмечено время введения веществ. Достоверность различий ($p < 0,05$):

* – по сравнению со значениями до операции, # – по сравнению со значениями на 7-е сутки до введения, ^ – по сравнению с контрольной группой, & – по сравнению с группой Лигирование + PalGly

Fig. 5. Change in area (a) and intensity (b) of the ipsilateral limb print in rats with peripheral neuropathy after intraperitoneal injection of FAA (PEA, SEA, and PalGly) at a dose of 1.5 mg/kg. The administration time of substances is marked with a bracket. Significance of differences ($p < 0.05$): * – compared to the values before surgery, # – compared to the values on the 7th day before injection, ^ – compared to the control group, & – compared to the Ligation + PalGly group

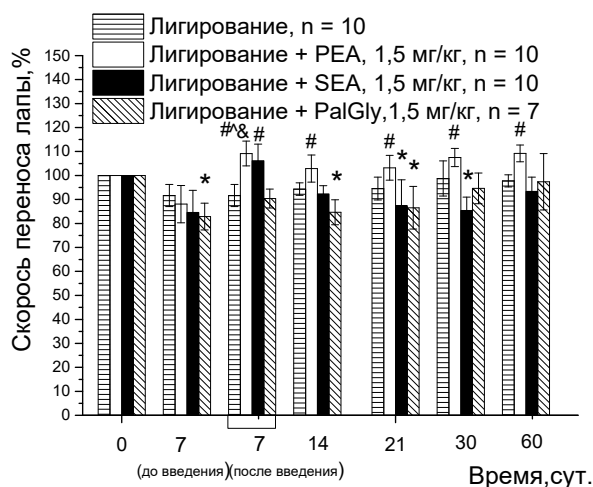


Рис. 6. Изменение скорости переноса ипсилатеральной конечности у крыс с периферической нейропатией после внутривентриального введения FAA (PEA, SEA и PalGly) в дозе 1,5 мг/кг. Скобкой отмечено время введения веществ. Достоверность различий ($p < 0,05$): * – по сравнению со значениями до операции, # – по сравнению со значениями на 7-е сутки, ^ – по сравнению с контрольной группой, & – по сравнению с группой Лигирование + PalGly

Fig. 6. Change in the transfer speed of the ipsilateral limb print in rats with peripheral neuropathy after intraperitoneal injection of FAA (PEA, SEA, and PalGly) at a dose of 1.5 mg/kg. The administration time of substances is marked with a bracket. Significance of differences ($p < 0.05$): * – compared to the values before surgery, # – compared to the values on the 7th day before injection, ^ – compared to the control group, & – compared to the Ligation + PalGly group

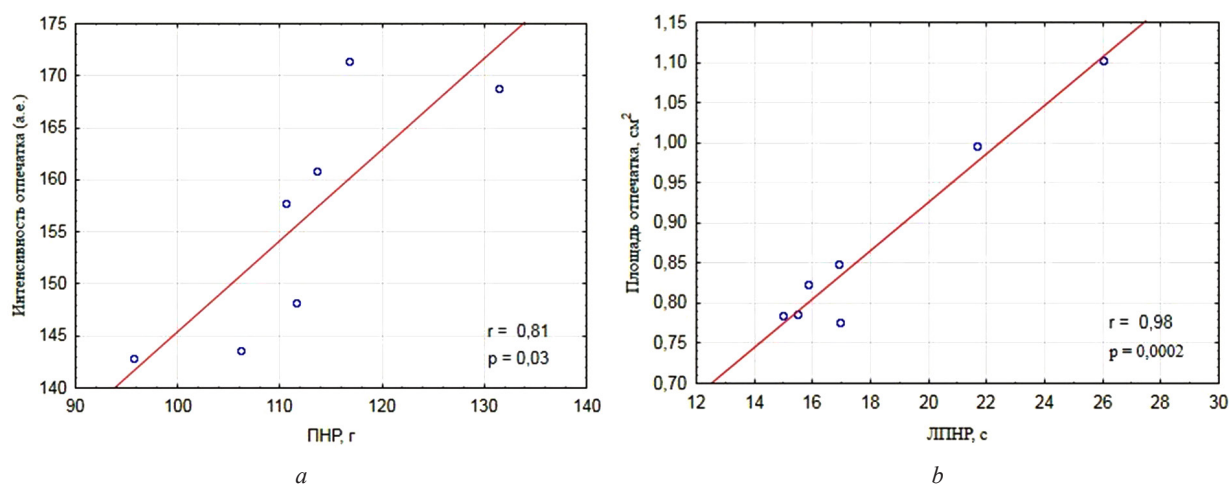
Согласно приведенным выше данным, однократное введение экспериментальным животным с периферической мононейропатией PEA, SEA либо PalGly в дозе 1,5 мг/кг на 7-е сутки исследования ослабляло выраженность ноцицептивной гипералгезии уже через 60 мин после инъекции. Для оценки согласованности изменений ноцицептивной чувствительности параметров походки были рассчитаны коэффициенты корреляции Спирмэна (табл. 3).

Т а б л и ц а 3. Сводная таблица коэффициентов корреляции у крыс с периферической нейропатией

Table 3. Summary table of the correlation coefficients in rats with peripheral neuropathy

Показатель	Группа	PEA	SEA	PalGly
Площадь отпечатка	1	0,61	0,73	0,95*
	2	0,42	0,98*	0,95*
Интенсивность отпечатка	1	0,81*	0,87*	0,96*
	2	0,80*	0,83*	0,92*
Скорость переноса лапы	1	0,37	0,77*	0,84*
	2	0,02	0,91*	0,77*

Примечание. Группы сравнения: 1 – ПНР, 2 – ЛПНР. * – $p < 0,05$ по сравнению с группой сравнения.

Рис. 7. Корреляционное поле для групп Лигирование + SEA (a) и Лигирование + PalGly (b) ($p < 0,05$)Fig. 7. Correlation field for the groups of Ligation + SEA (a) and Ligation + PalGly (b) ($p < 0,05$)

Установлена положительная корреляционная связь во всех экспериментальных группах. При этом, согласно корреляционному коэффициенту Спирмена, наиболее сильная связь отмечена в группах Лигирование + SEA и Лигирование + PalGly (рис. 7).

Таким образом, полученные коэффициенты корреляции показывают наличие статистической взаимосвязи между изменениями параметров ноцицептивных реакций и показателями походки крыс.

Заключение. В результате проведенного исследования установлено, что введение интактным крысам одного из амидов жирных кислот (PEA, SEA или PalGly) приводит к антиноцицептивному действию, о чем свидетельствует достоверное повышение значений ПНР и ЛПНР. При регистрации показателей походки установлено, что SEA больше влияет на изменение интенсивности отпечатка конечностей экспериментальных животных, а PalGly – на скорость пробега крыс.

Инъекция одного из FAA (PEA, SEA или PalGly) крысам на фоне гипералгезии, вызванной лигированием седалищного нерва, оказывала выраженное анальгезирующее действие, что подтверждает статистически значимое увеличение порога и латентного периода ноцицептивной реакции. Схожий результат зафиксирован при регистрации паттернов походки, а именно: повышение значений интенсивности и площади отпечатка, а также скорости переноса конечности после введения исследуемых веществ. Однако, согласно полученным данным, PEA и SEA более эффективны при купировании ноцицептивной чувствительности при нейропатической боли и восстановлении параметров походки, чем PalGly.

Изучение влияния курсового применения исследуемых соединений и их производных, в том числе механизмов формирования антиноцицептивного эффекта при их участии, требует дальнейших исследований в этом направлении.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Ткачева, О. Н. Нарушения походки в пожилом и старческом возрасте: метод. рекомендации / О. Н. Ткачева. – М. : Прометей, 2019. – 48 с.
2. Оценка антиноцицептивного действия амидов пальмитиновой кислоты / Т. Б. Мелик-Касумов [и др.] // Вест. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2016. – Т. 15, № 4. – С. 25–31.
3. Чайка, А. В. Методы экспериментального доклинического тестирования анальгетического действия различных факторов на лабораторных крысах и мышах / А. В. Чайка, И. В. Черетаев, Д. Р. Хусаинов // Уч. записки Крымск. фед. ун-та им. В. И. Вернадского. Сер. биол. и хим. – 2015. – Т. 67, № 1. – С. 161–173.
4. Ezzili, C. Fatty acid amide signaling molecule / C. Ezzili, K. Otrubova, D. L. Boger // Bioorg. Med. Chem. Lett. – 2010. – Vol. 20, N 20. – P. 5959–5968. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2010.08.048>
5. Effect of palmitoylethanolamide on inflammatory and neuropathic pain in rats / T.-K. Seol [et al.] // Korean J. Anesthesiol. – 2017. – Vol. 70, N 5. – P. 561–566. <https://doi.org/10.4097/kjae.2017.70.5.561>
6. Влияние производных жирных кислот, обладающих каннабимиметическим действием, на латентный период ноцицептивного рефлекса у крыс при моделировании острой и нейропатической боли / А. Ю. Молчанова [и др.] // Белорусские лекарства: материалы междунар. науч.-практ. конф, Минск, 27–28 нояб. 2014 г. / Ин-т биоорг. химии НАН Беларусі. – Минск, 2014. – С. 145–147.
7. Молчанова, А. Ю. Эндоканнабиноидная система: физиология, патофизиология, терапевтический потенциал / А. Ю. Молчанова. – Минск : Беларус. наука, 2015. – 211 с.
8. Антиноцицептивный эффект системного введения пальмитоилэтананоламида, стеариолэтананоламида и диклофенака у крыс с экспериментальным нейрогенным болевым синдромом / А. Ю. Молчанова [и др.] // Вест. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2018. – Т. 15, № 3. – С. 331–338.
9. Anandamide vehicles: a comparative study / V. López-Miranda [et al.] // Eur. J. Pharmacol. – 2004. – Vol. 505, N 1–3. – P. 151–161. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2004.10.017>
10. Polysorbate 80: pharmacological study / R. K. Varma [et al.] // Arzneimittel-forschung. – 1985. – Vol. 35, N 5. – P. 804–808.
11. 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 [Электронный ресурс]: постановление М-ва сельск. х-ва и продовольствия Респ. Беларусь, 21 мая 2010 г., № 36 // Национальный правовой Интернет-портал Республики Беларусь. – Режим доступа: <https://pravo.by/document/?guid=3961&p0=W210p0118>. – Дата доступа: 22.09.2022.
12. The influence of rat strain on the development of neuropathic pain and comorbid anxiety-depressive behavior after nerve injury / S. Hestehave [et al.] // Sci. Reports. – 2020. – Vol. 10, N 1. – Art. 20981. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-77640-8>
13. Evaluating gait and locomotion in rodents with the CatWalk / J. M. Garrick [et al.] // Cur. Prot. – 2021. – Vol. 1, N 8. – P. e220. <https://doi.org/10.1002/cpz1.220>
14. Gait analysis correlates mechanical hyperalgesia in a model of streptozotocin-induced diabetic neuropathy: A CatWalk dynamic motor function study / W. F. Vieira [et al.] // Neurosci. Lett. – 2020. – Vol. 736. – Art. 135253. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2020.135253>
15. Use of the CatWalk gait analysis system to assess functional recovery in rodent models of peripheral nerve injury – a systematic review / J. Heinzel [et al.] // Neurosci. Methods. – 2020. – Vol. 345. – Art. 108889. <https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2020.108889>

References

1. Tkacheva O. N. *Gait disorders in the elderly and senile age. Methodological recommendations*. Moscow, Prometei Publ., 2019. 48 p. (in Russian).
2. Melik-Kasumov T. B., Pavlyut' T. O., Zhavoronok I. P., Antipova O. A., Pekhtereva E. I., Vasil'kevich A. I., Kisel' M. A., Molchanova A. Yu. Assessment of antinociceptive effects of palmitic acid amides. *Vesti Natsyonal'nai akademii nauk Belarusi. Seriya medytsynskikh nauk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2016, vol. 15, no. 4, pp. 25–31 (in Russian).
3. Chaika A. V., Cheretaev I. V., Khusainov D. R. Methods of experimental preclinical testing of analgesic effects of various factors on laboratory rats and mice. *Uchenye zapiski Krymskogo federal'nogo universiteta imeni V. I. Vernadskogo. Biologiya. Khimiya* [Scientific notes of the Crimean Federal University named after V. I. Vernadsky. Biology. Chemistry], 2015, vol. 67, no. 1, pp. 161–173 (in Russian).
4. Ezzili C., Otrubova K., Boger D. Fatty acid amide signaling molecule. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2010, vol. 20, no. 20, pp. 5959–5968. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2010.08.048>
5. Seol T.-K., Lee W., Park S., Kim K. N., Kim T. Y., Oh Y. N., Jun J. H. Effect of palmitoylethanolamide on inflammatory and neuropathic pain in rats. *Korean Journal of Anesthesiology*, 2017, vol. 70, no. 5, pp. 561–566. <https://doi.org/10.4097/kjae.2017.70.5.561>
6. Molchanova A. Yu., Zhavoronok I. P., Targonskaya E. I., Antipova O. A., Pavlyut' T. O., Melik-Kasumov T. B., Ablomeiko A. C., Timakhovich T. G., Sharko O. L., Kisel' M. A. The effect of fatty acid derivatives having a cannabimimetic effect on the latent period of the nociceptive reflex in rats when modeling acute and neuropathic pain. *Belorusskie lekarstva: materialy Mezhdunarodnoi nauchno-prakticheskoi konferentsii (Minsk, 27–28 noyabrya 2014 goda)* [Belarusian medicines:

proceedings of the International scientific and practical conference (Minsk, November 27–28, 2014)]. Minsk, 2014, pp. 145–147 (in Russian).

7. Molchanova A. Yu. *Endocannabinoid system: physiology, pathophysiology, therapeutic potential*. Minsk, Belaruskaya navuka Publ., 2015. 211 p. (in Russian).

8. Molchanova A. Yu., Zhavoronok I. P., Pekhtereva E. I., Antipova O. A., Melik-Kasumov T. B., Pavlyut' T. O., Vasil'kevich A. I., Kisel' M. A. Antinociceptive effect of systemic administration of palmitoylethanolamide, stearoylethanolamide and diclofenac in rats with experimental neurogenic pain syndrome. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya medytsynskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2018, vol. 15, no. 3, pp. 331–338 (in Russian).

9. López-Miranda V., Herradón E., Dannert M. T., Alsasua A., Martín M. I. Anandamide vehicles: a comparative study. *European Journal of Pharmacology*, 2004, vol. 505, no. 1–3, pp. 151–161. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2004.10.017>

10. Varma R. K., Kaushal R., Junnarkar A. Y., Thomas G. P., Naidu M. U., Singh P. P., Tripathi R. M., Shridhar D. R. Polysorbate 80: pharmacological study. *Arzneimittel-forschung*, 1985, vol. 35, no. 5, pp. 804–808.

11. On the approval of veterinary and sanitary rules for the reception, care and autopsy of experimental animals in vivariums of research institutes, stations, laboratories, educational institutions, as well as in nurseries: Resolution of the Ministry of Agriculture and Food of the Republic of Belarus, May 21, 2010, N 36. *National Legal Internet Portal of the Republic of Belarus*. Available at: <https://pravo.by/document/?guid=3961&p0=W210p0118> (accessed 22.09.2022) (in Russian).

12. Hestehave S., Abelson K. S. P., Pedersen T. B., Finn D. P., Andersson D. R., Munro G. The influence of rat strain of the development of neuropathic pain and comorbid anxiety-depressive behavior after nerve injury. *Scientific Reports*, 2020, vol. 10, no. 1, art. 20981. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-77640-8>

13. Garrik J. M., Costa L. G., Cole T. B., Marsillach J. Evaluating gait and locomotion in rodents with the CatWalk. *Current Protocols*, 2021, vol. 1, no. 8, p. e220. <https://doi.org/10.1002/cpz1.220>

14. Vieira W. F., Malange K. F., de Magalhães S. F., Dos Santos G. G., de Oliveira A. L. R., da Cruz-Höfling M. A., Parada C. A. Gait analysis correlates mechanical hyperalgesia in a model of streptozotocin-induced diabetic neuropathy: A CatWalk dynamic motor function study. *Neuroscience Letters*, 2020, vol. 736, art. 135253. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2020.135253>

15. Heinzl J., Längle G., Oberhauser V., Hausner T., Kolbenschlager J., Prahm C., Grillari J., Hercher D. Use of the CatWalk gait analysis system to assess functional recovery in rodent models of peripheral nerve injury – a systematic review. *Neuroscience Methods*, 2020, vol. 345, art. 108889. <https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2020.108889>

Информация об авторах

Доронькина Анастасия Сергеевна – аспирант, мл. науч. сотрудник. Институт физиологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 28, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: doronkina_nastasya1995@mail.ru

Михальчук Александр Леонидович – канд. хим. наук, вед. науч. сотрудник. Институт биоорганической химии НАН Беларуси (ул. Академика Купревича, 5/2, 220141, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: lipmal@iboch.by

Губкин Сергей Владимирович – член-корреспондент, д-р мед. наук, профессор, директор. Институт физиологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 28, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: goubkin@yandex.ru

Молчанова Алла Юрьевна – канд. биол. наук, заведующий лабораторией. Институт физиологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 28, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: alla@fizio.bas-net.by

Богдан Василий Генрихович – д-р мед. наук, профессор, академик-секретарь отделения медицинских наук НАН Беларуси (пр-т Независимости, 66, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: medic@presidium.bas-net.by

Information about the authors

Anastasya S. Doronkina – Postgraduate student, Junior Researcher. Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus (28, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: doronkina_nastasya1995@mail.ru

Alexander L. Mikhailchuk – Ph. D. (Chem.), Leading Researcher. Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus (5/2, Akademik Kuprevich Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: lipmal@iboch.by

Sergey V. Goubkin – Corresponding Member, D. Sc. (Med.), Professor, Director. Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus (28, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: goubkin@yandex.ru

Alla Ju. Molchanova – Ph. D. (Biol.), Head of the Laboratory. Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus (28, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: alla@fizio.bas-net.by

Vasily G. Bogdan – D. Sc. (Med.), Professor, Academician-Secretary of the Department of Medical Sciences of the National Academy of Sciences of Belarus (66, Nezavisimosti Ave., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: medic@presidium.bas-net.by