

Обращают на себя внимание весьма близкие спектры поглощения экстрактов корней цикория, изготовленные разными предприятиями и даже в разных странах (России и Индии), что служит показателем общности набора веществ в конечных продуктах. Вместе с тем, спектры поглощения водных растворов сухих экстрактов из корней и настоев на корнях цикория по характеру значительно различаются, у первых один максимум, а у вторых – два. Вероятно, в процессе изготовления сухих водорастворимых экстрактов из корней цикория их химический состав искажается, технологически теряются или подвергаются превращениям вещества, обеспечивающие наличие второго максимума, однако, это требует уточнения и более углубленных исследований.

В заключение можно добавить, что набор фотометрических параметров может служить показателем качества конечного продукта. Используемая сравнительно простая спектрофотометрическая методика пригодна не только для решения задач фармации, но может быть принята на вооружение и в гигиене питания для характеристики качества пищевых добавок.

Литература

1. Инулин [сайт]. URL: <http://www.inulin.ru/ob-inuline> (дата обращения 5.02.2014).
2. Колдаев В.М. Спектры поглощения экстрактов из лекарственных растений Приморья. М.: Спутник+, 2013. 128 с.

3. Мазнев Н. И. Новейшая энциклопедия лекарственных растений. М.: ДОМ. XXI век, 2009. 621 с.
4. Максимов О.Б., Кулеш Н.И., Горовой П.Г. Полифенолы дальневосточных растений. Владивосток: Дальнаука, 2002. 332 с.
5. Минина С.А., Каухова И.Е. Химия и технология фитопрепаратов. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. 560 с.
6. Одуванчик лекарственный // Neboleem.net [Интернет-портал]. URL: <http://www.neboleem.net/oduvanchik-lekarstvennyj.php> (дата обращения 5.02.2014).
7. Топинамбур // Tumannyj.ru [сайт]. URL: <http://tumannyj.ru/p0303.htm> (дата обращения 5.02.2014).

Поступила в редакцию 14.02.2014.

Спектрофотометрические параметры извлечений из цикория

В.М. Колдаев

Горнотаежная станция им. В.Л. Комарова ДВО РАН (692533, Приморский край, Уссурийский район, с. Горнотаежное, ул. Солнечная, 26)

Резюме. Показано, что спектры поглощения настоев на подземных частях цикория, одуванчика и топинамбура идентичны, что указывает на общность в них суммы веществ. Абсорбционные спектры экстрактов корней цикория, изготовленных в России и Индии, довольно близки, что указывает на тождественность веществ в конечных продуктах. Однако спектры поглощения растворов сухих экстрактов и настоев корней цикория значительно различаются. По-видимому, при изготовлении сухих экстрактов из корней цикория вещества, обеспечивающие наличие спектральных максимумов, подвергаются превращениям, и химический состав искажается.

Ключевые слова: экстракт цикория, клубни топинамбура, корни одуванчика, спектрофотометрия.

УДК 616.8-009.7-085.212.7:547.495.9

ОСОБЕННОСТИ АНАЛГЕТИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ АГМАТИНА В МОДЕЛИ ТОНИЧЕСКОЙ ВОСПАЛИТЕЛЬНОЙ БОЛИ

И.В. Дюйзен^{1,2}, Т.В. Балашова¹, Н.Е. Ламаш², Л.А. Мнацаканян¹, А.А. Сосин¹, А.О. Быков¹, В.Б. Шуматов¹

¹ Тихоокеанский государственный медицинский университет (690950, г. Владивосток, пр-т Острякова, 2),

² Институт биологии моря им. А.В. Жирмунского ДВО РАН (690041, г. Владивосток, ул. Пальчевского, 17)

Ключевые слова: болевая чувствительность, агматина сульфат, аналгезия, нейротрансмиттеры.

FEATURES OF AGMATINE ANALGETIC EFFECT IN THE MODEL OF TONIC INFLAMMATORY PAIN

I.V. Dyuyzen^{1,2}, T.V. Balashova¹, N.E. Lamash², L.A. Mnatsakanyan¹, A.A. Sosin¹, A.O. Bykov¹, V.B. Shumatov¹

¹ Pacific State Medical University (2 Ostryakova Ave. Vladivostok 690950 Russian Federation), ² Institute of Marine Biology named after A.V. Zhirmunskiy FEB RAS (17 Palchevskogo St. Vladivostok 690041 Russian Federation)

Background. Among the potential bipolar analgesics the imidazoline receptor stimulants are currently under consideration, their effect probably simulates the one of certain endogenous agonist, the most likely candidate for the role of which is a polyamine agmatine.

Methods. In the experiment on nonlinear male rats during intraperitoneal introduction the researchers examined the agmatine sulphate effect on the severity of pain sensitivity and nociceptive threshold parameters on the model of tonic inflammatory pain. After taking the animals out of the experience the researchers us-

ing the method of high-performance liquid chromatography determined the agmatine content in different parts of the brain and in the cerebrospinal fluid.

Results. Introduction of agmatine sulphate in the dose of 50, 100 and 200 mg/kg has reduced the severity of pain, mainly, at the tonic pain stage. Introduction of agmatine to the intact animals did not change the initial threshold of the temperature pain sensitivity but increased activity of «analgesia caused by pain.» After injection the drug accumulates in the spinal cord, brain and cerebrospinal fluid.

Conclusions. Agmatine anti-algetic effect, probably, is due to its effect on the activity of different signaling mechanisms of the central nervous system, particularly the system of nitric oxide synthesis. The presence of the drug after intraperitoneal introduction in different parts of the brain indicates its ability to break the blood-brain barrier. This fact, along with the results of testing the agmatine biological activity allows to consider agmatineergic system of the brain as a potential target of analgesics.

Keywords: pain sensitivity, agmatine sulphate, analgesia, neurotransmitters.

Дюйзен Инесса Валерьевна – доктор мед. наук, заведующая центральной научно-исследовательской лабораторией ТГМУ, в.н.с. лаборатории фармакологии ИБМ ДВО РАН; e-mail: duval@mail.ru

Pacific Medical Journal, 2014, No. 2, p. 43–47.

Попыткам избавить человека от боли не одна тысяча лет – от самых радикальных, вроде трепанации черепа по методу древних египтян, до вполне безобидных, но небезопасных советов «погулять и поспать». Однако, до настоящего времени медицина проблему боли не решила. По данным Всемирной организации здравоохранения, боль по масштабам распространения вполне сопоставима с пандемией. До 90 % заболеваний человека сопровождаются развитием болевых синдромов. При этом в арсенале современной медицины присутствует весьма скромный и малообновляемый набор обезболивающих препаратов: морфин и другие опиоиды, нестероидные противовоспалительные средства, а также разнообразные вещества неспецифического действия – антиконвульсанты и антидепрессанты [1]. Все известные на сегодняшний день анальгетики обладают нежелательными побочными эффектами или имеют значимые противопоказания, что резко ограничивает область их клинического применения [5]. Кроме того, традиционные анальгетики оказываются практически бесполезными при купировании некоторых типов болевых синдромов. Поиск перспективных кандидатов на роль анальгетиков нового поколения ведется по нескольким направлениям, одним из которых является активация эндогенных антиболевых ресурсов организма. Известно, что анальгетический эффект может создаваться веществами, непосредственно не взаимодействующими с опиатными рецепторами – так называемыми биполярными модуляторами опиатов или биполярными анальгетиками [2–4, 15]. К их числу относятся центральные симпатомиметики – агонисты α_2 -адренорецепторов (клофелин, мевазерол, дексметомидин), антагонисты NMDA-рецепторов (неспецифический антагонист – кетамин), ингибиторы нейрональной нитроксидсинтазы. В числе потенциальных биполярных анальгетиков в настоящее время рассматриваются стимуляторы имидазолиновых рецепторов (гуанфацин). Предполагается, что их действие имитирует эффекты некоего эндогенного агониста, наиболее вероятным кандидатом на роль которого является полиамин агматин. Данное вещество отвечает всем признакам нейротрансмиттера центральной нервной системы: образуется при декарбоксилировании аминокислоты (аргинина), депонируется в синаптических везикулах, высвобождается в синаптическое пространство Са-зависимым путем и имеет систему собственной постсинаптической инактивации [8]. Предварительные исследования показали, что дополнительное введение животным этого вещества потенцирует анальгетический эффект опиатов, препятствует развитию толерантности, снижает проявления абстинентного синдрома [7, 9, 11]. Однако до настоящего времени данные о собственных антиболевых эффектах агматина и его влиянии на порог боли остаются противоречивыми. Неизвестно, определяется ли влияние агматина на трансмиссию болевого сигнала его периферическим (антивоспалительным) действием или связано с центральными механизмами. Остаются неизученными

многие аспекты морфо-функциональной организации агматинергической системы в мозге.

Цель работы: выявление особенностей и механизмов реализации антиболевого эффекта агматина сульфата в условиях моделирования тонической воспалительной боли.

Материал и методы. Экспериментальное исследование выполнено на 30 здоровых половозрелых нелинейных крысах-самцах массой 250–300 г, содержащихся в стандартных условиях вивария в соответствии с «Санитарными правилами по устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник» № 1045-73 от 6.04.1993 г. Все эксперименты выполнены в соответствии с правилами бережного обращения с лабораторными животными в соответствии с приложением 4 к приказу № 755 МЗ СССР. В целом экспериментальное исследование складывалось из нескольких этапов.

1 этап. Определение исходного уровня температурной болевой чувствительности животных. Для этого с помощью теста горячей пластины (Hot-plate-test) и теста отдергивания хвоста (Tail-flick-test) измеряли латентный период двигательной реакции избегания. В дальнейшем для эксперимента из общей популяции были отобраны животные со средним порогом температурной болевой чувствительности.

2 этап. Изучение влияния агматина на порог ноцицептивной чувствительности. Для этого через 30 мин. после введения агматина сульфата (внутрибрюшинно, однократно, в дозах 50, 100 и 200 мг/кг, в объеме 150 мкл на животное) выполняли повторное измерение показателей теста горячей пластины.

3 этап. Изучение влияния агматина на выраженность болевой реакции при моделировании тонической воспалительной боли. Для формирования острой боли крысам в область подошвы задней правой лапы подкожно вводили 0,2 мл 4 % раствора формалина. Контролем служили крысы, которым вместо формалина в лапу вводили аналогичное количество физиологического раствора.

Таким образом в ходе исследования были сформированы следующие экспериментальные группы (по 5 крыс в каждой): группа интактных животных, группа «боль» (животные с моделью формалиновой боли), группа «контроль» (животные с инъекцией в лапу физ. раствора вместо формалина), а также животные с моделью формалиновой боли, получавшие за 30 мин. до болевой стимуляции агматина сульфат в разных дозах (группы «агматин 50», «агматин 100» и «агматин 200»).

Использованная в нашей работе «формалиновая модель» боли является международной патентованной процедурой для скрининга препаратов с предполагаемой анальгетической активностью [10]. Традиционно, выраженность болевого синдрома в данном тесте оценивали, регистрируя два показателя ноцицептивного поведения (время лизания поврежденной конечности и общее число спонтанных болевых вздрагиваний).

Для анализа поведенческой активности животных помещали в отдельные боксы (10×25×25 см) с прозрачными стенками, к дну которых под углом 45° монтировалось зеркало. Регистрацию болевого поведения проводили в течение 60 мин. после введения формалина, затем осуществляли детальный анализ полученной видеозаписи, отдельно учитывая изменения, происходящие в острую (1–10 мин.) и тоническую (10–60 мин.) фазы боли.

4 этап. Исследование влияния агматина на параметры ноцицептивного порога после предварительной болевой стимуляции (так называемая аналгезия, вызванная болью) проводилось через час после моделирования формалиновой боли повторным измерением латентного периода в тесте горячей пластины. На каждом этапе эксперимента выполнялось 3-кратное тестирование каждого животного с интервалом в 1 мин.

5 этап. После эвтаназии животных (глубокий эфирный наркоз) забирали кровь, спинномозговую жидкость и участки ткани мозга (поясничное утолщение спинного мозга, продолговатый мозг, гипоталамус, сомато-сенсорная кора) для последующего биохимического исследования. Содержание агматина в исследуемых образцах определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии.

Статистический анализ полученных результатов проводили с использованием t-критерия Стьюдента для парного сравнения групп (с использованием пакета программ GraphPadPrizm 4.0).

Результаты исследования. Однократное внутрибрюшинное введение агматина сульфата интактным животным в дозах 50 и 100 мг/кг не изменяло исходный порог температурной болевой чувствительности, достоверное снижение чувствительности наблюдалось лишь при использовании максимальной дозы агматина (рис. 1).

Развитие воспалительной боли не сопровождалось изменением порога температурной болевой чувствительности. В то же время предварительное внутрибрюшинное введение агматина животным с хемогенной моделью боли демонстрировало достоверное увеличение латентного периода реакции избегания в тесте горячей пластины (с момента помещения животного на поверхность пластины до первого подергивания одной из задних лап). Увеличение порога болевой чувствительности оказалось более выраженным при использовании агматина в дозах 100 и 200 мг/кг (рис.1).

Известно, что болевая реакция на подкожное введение раствора формалина состоит из двух фаз. Первая фаза формалинового теста характеризуется острой болью, возникающей в ответ на инъекцию раздражителя, и связана с прямой химической стимуляцией ноцицептивных афферентов. Вторая (тоническая) фаза начинается через 10–15 мин. после химического раздражения периферических тканей и длится около часа. Эта фаза является результатом сенситизации нейронов задних рогов спинного мозга вследствие развития воспалительного процесса в месте инъекции. На этих фазах животные демонстрируют два типа характерного

поведения, механизм реализации которых имеет ряд особенностей. Полилизывания поврежденной конечности являются результатом совокупной работы супрасегментарных механизмов интегративной болевой реакции – дискриминативного, эмоционального и моторного. Болевые вздрагивания (всем телом или поврежденной конечностью) являются признаком интенсивности спинальных ноцицептивных рефлексов [10, 14].

Поведенческая реакция животных зависела от фазы боли: в первые 10 мин оба болевых признака были выражены довольно отчетливо, для второй фазы оказалось характерным значительное увеличение числа болевых рефлекторных вздрагиваний. Следует отметить, что введение в лапу физиологического раствора не сопровождалось изменениями в поведении животных, значимо отличимых от интактного состояния (рис. 2).

Предварительное внутрибрюшинное введение агматина значительно изменяло реакцию животных на болевое повреждение. В первой фазе при использовании всех доз препарата была зарегистрирована тенденция к незначительному нарастанию длительности полилизывания поврежденной конечности по сравнению с животными группы «боль». Выраженное уменьшение интенсивности данного паттерна болевого поведения наблюдалось во вторую фазу боли: длительность периодов полилизывания и общее количество спонтанных вздрагиваний уменьшалось более чем в 5 раза и зависело от дозы введенного агматина. Максимальный аналгетический эффект агматин демонстрировал в отношении развития рефлекторных болевых вздрагиваний. Этот эффект начинал регистрироваться уже в первые минуты после болевого воздействия и значительно усиливался в фазу тонической боли (рис. 2).

Исследуя динамику содержания агматина в мозге, ликворе и сыворотке животных разных экспериментальных групп, можно сделать предварительные выводы о локусах реализации действия эндогенного

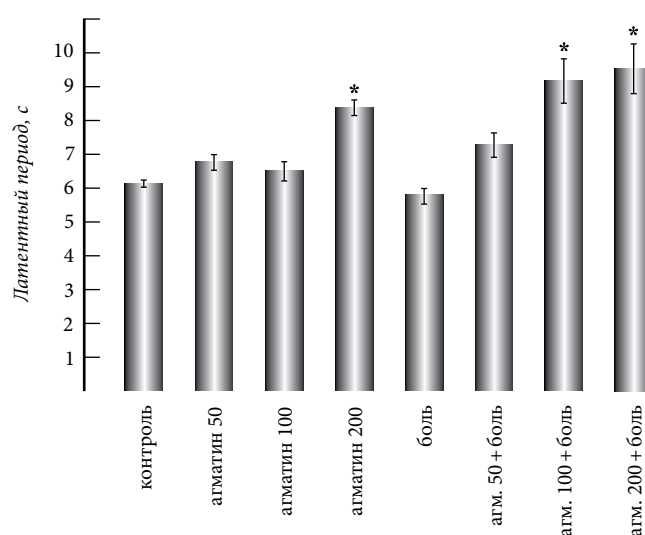


Рис. 1. Влияние различных доз агматина на порог температурной болевой чувствительности у крыс (* Различия с группой контроля достоверны).

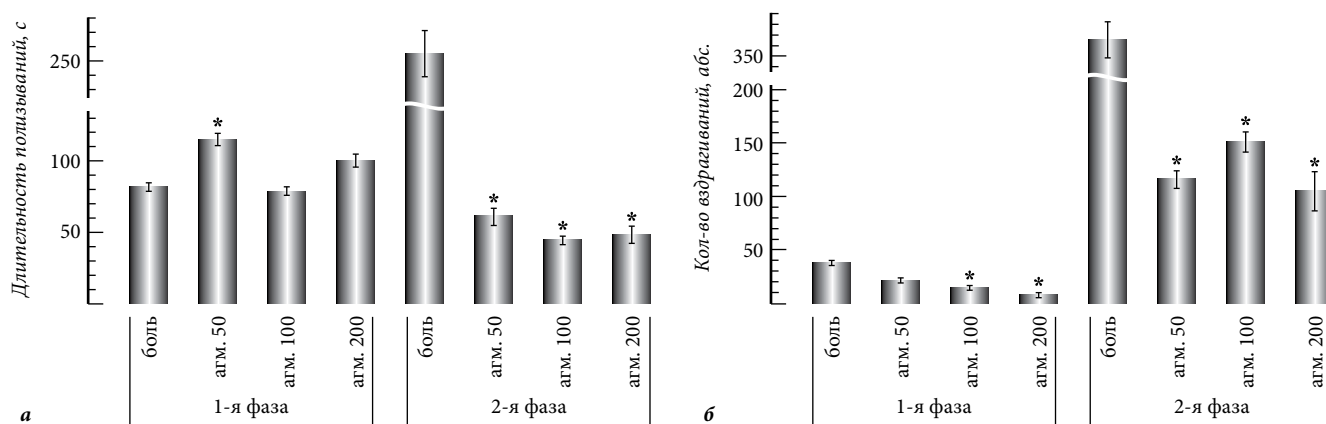


Рис. 2. Изменение параметров болевой активности животных в 1-ю и 2-ю фазы воспалительной боли:

а –лизывания поврежденной конечности, б – болевые вздрагивания (* Различия с соответствующими показателями животных группы «боль» достоверны).

и экзогенно введенного агматина (рис. 3, 4). На фоне развития болевого синдрома резко снижалось содержание агматина в плазме крови, при этом концентрация амина в различных отделах мозга и в cerebrospinalной жидкости достоверно нарастала. Наиболее заметные сдвиги наблюдались в спинном мозге, коре больших полушарий и гипоталамусе, где уровень агматина увеличивался в 2–3 раза по сравнению с группой «интактные». Дополнительное введение агматина приводило к увеличению концентрации амина не только в периферической крови, но и тканях мозга и спинномозговой жидкости и носило отчетливый дозозависимый характер.

Обсуждение полученных данных. Результаты исследования позволяют сделать следующие выводы:

1. Введение агматина сульфата интактным животным не оказывает влияния на уровень температурного болевого порога. Данный эффект продемонстрирован ранее в работе S. Aggarwal et al. [6], что позволило авторам отказаться от идеи о наличии собственного антиболевого действия у агматина.

2. Агматин влияет на порог болевой чувствительности только в условиях предварительной болевой стимуляции. Данный феномен, так называемая «аналгезия, вызванная болью», напрямую зависит от активности эндогенных антиболевых систем [14]. Это позволяет предполагать большее значение агматинергической нейротрансмиссии в работе механизмов эндогенной аналгезии, чем в контроле периферических ноцицептивных систем.

3. Развитие болевого синдрома сопровождается усилением метаболизма агматина в центральной нервной системе. Известно, что многие полиамины способны транспортироваться из крови в ткани мозга с участием специфических транспортеров [13]. Неисключено, что болевая стимуляция формирует предпосылки для усиления активности агматинергической системы мозга за счет транспорта амина из крови в мозг. Об этом свидетельствует в нашем исследовании резкое снижение концентрации агматина в плазме крови на фоне нарастания его содержания в тканях центральной нервной системы.

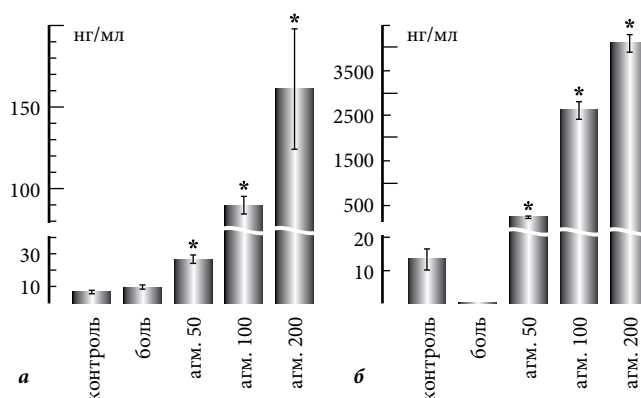


Рис. 3. Содержание агматина в спинномозговой жидкости (а) и крови (б) крыс с моделью воспалительной боли (* Различия достоверны по сравнению с интактным контролем).

4. Предварительное введение агматина сульфата дозозависимо уменьшает выраженность болевого синдрома. При этом максимальное анальгетическое действие препарата регистрируется во вторую (тоническую) фазу «формалинового теста» и выражается в уменьшении интенсивности обоих регистрируемых болевых симптомов. Антиболевое действие агматина, возможно, связано с его влиянием на активность различных сигнальных механизмов центральной нервной системы, в частности, системы синтеза оксида азота. Взаимосвязь между нитроксид- и агматинергическими системами в механизмах развития боли становится весьма очевидной в связи с тем, что источником образования обеих сигнальных молекул является единый предшественник – аминокислота аргинин [15]. Метаболизм этой аминокислоты, протекающий в большинстве органов млекопитающих, имеет широкую сеть биохимических процессов, обслуживаемых различными ферментными системами, которые могут быть со-локализованы в одной клетке, либо иметь тканевую специфичность. Другим возможным механизмом действия агматина является его взаимодействие с рецепторами глутамата [12]. Известно, что глутамат является основным нейромедиатором, обеспечивающим на сегментарном уровне трансмиссию болевого сигнала и формирование процессов центральной сенситизации [14]. Его влияние на AMPA- и

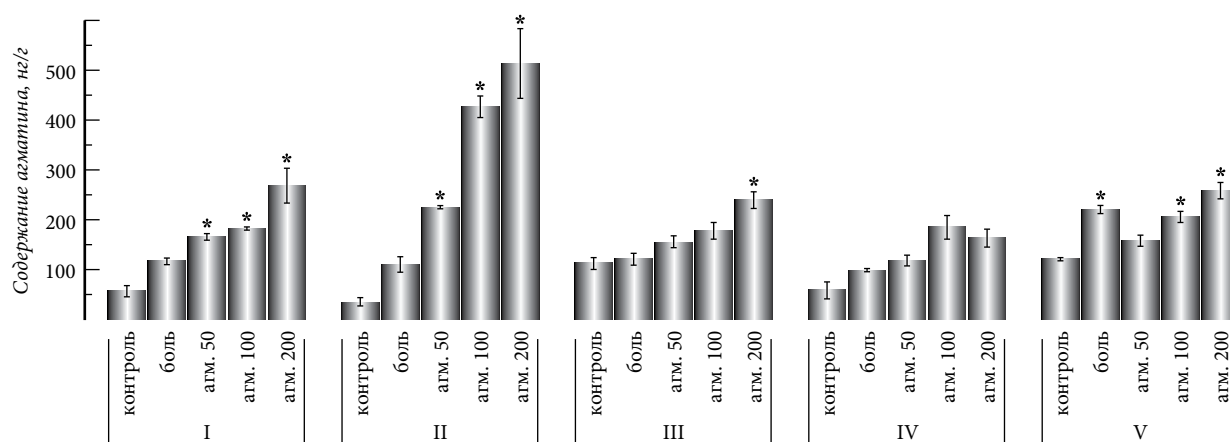


Рис. 4. Содержание агматина в головном и спинном мозге крыс с моделью воспалительной боли:

I – кора больших полушарий, II – гипоталамус, III – продолговатый мозг, IV – средний мозг, V – спинной мозг (* Различия достоверны по сравнению с интактным контролем).

NMDA-глутаматные рецепторы активирует в нейронах задних рогов спинного мозга цепь последовательных событий, которые лежат в основе развития патологических болевых феноменов – аллодинии и гипералгезии. В этой связи данные о тормозном влиянии агматина на активность нитроксидсинтаз и NMDA-глутаматных рецепторов [12, 14] могут объяснять зарегистрированные в настоящем исследовании антиноцицептивные свойства биогенного амина.

5. Действие экзогенно введенного агматина связано с развитием его центральных эффектов. Об этом свидетельствуют результаты, полученные при хроматографическом анализе динамики содержания этого амина в разных участках нервной ткани. После внутрибрюшинного введения препарат дозозависимым способом распределялся в различных отделах головного мозга животных, что указывает на его способность преодолевать гематоэнцефалический барьер. Данное обстоятельство, наряду с результатами проведенного тестирования биологической активности агматина, позволяет рассматривать агматинергическую систему мозга в качестве потенциальной мишени действия разрабатываемых препаратов-аналгетиков.

Работа выполнена при финансовой поддержке грантов ДВО РАН № 12-I-П7-05 и № 12-III-A-06-090

Литература

1. Волчков В.А., Игнатов Ю.Д., Страшнов В.И. Болевые синдромы в анестезиологии и реаниматологии. М.: МЕДпресс-информ, 2006. 320 с.
2. Дюйзен И.В., Балашова Т.В., Ламаш Н.Е. [и др.] Нейротрансмиттерная роль агматина, его взаимодействие с классическими нейромедиаторами и участие в механизмах развития боли // Тихоокеанский мед. журнал. 2013. № 4. С. 26–32.
3. Дюйзен И.В., Ламаш Н.Е. Взаимодействие NO- и норадренергической систем головного мозга в механизмах боли и опиатной анальгезии // Вестник ДВО РАН. 2006. № 2. С. 70–76.
4. Дюйзен И.В., Ламаш Н.Е. Влияние NO-модулирующих препаратов на развитие острой болевой реакции у крыс // Бюл. эксперимент. биол. и мед. 2008. № 8. С. 179–182.
5. Осипова Н.А., Петрова В.В. Боль в хирургии. Средства и способы защиты. М.: МИА, 2013. 464 с.
6. Aggarwal S., Shavalian B., Kim E., Rawls S.M. Agmatine enhances cannabinoid action in the hot-plate assay of thermal nociception // Pharmacol., Biochem. Behavior. 2009. Vol. 93. P. 426–432.

7. Fairbanks C.A., Schreiber K.L., Brewer K.L. [et al.] Agmatine reverses pain induced by inflammation, neuropathy, and spinal cord injury // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2000. Vol. 97, No. 19. P. 10584–10589.
8. Halaris A., Piletz J. Agmatine: metabolic pathway and spectrum of activity in brain // CNS Drugs. 2007. Vol. 21, No. 11. P. 885–900.
9. Horvath G., Kekesi G., Dobos I. et al. Effect of intrathecal agmatine on inflammation-induced thermal hyperalgesia in rats // Eur. J. Pharmacol. 1999. Vol. 368, No. 2–3. P. 197–204.
10. Janicki P.K., Parris W. Animal models for pain research // Current Pain and Headache Reports. 1997. Vol. 1. P. 271–277.
11. Kolesnikov Y.A., Jain S., Wilson R. [et al.] Peripheral morphine analgesia: synergy with central sites and a target of morphine tolerance // J. Pharmacol. Exp. Ther. 1996. Vol. 279, No. 2. P. 502–506.
12. Nakanishi O., Ishikawa T., Harano N. [et al.] The analgetic effect of agmatine in formalin-induced pain is enhanced by an NMDA-receptor antagonists // European Journal of Pain. 2009. Vol. 13. P. S55–S285.
13. Masuko T., Kusama-Eguchi K., Sakata K. [et al.] Polyamine transport, accumulation, and release in brain // Journal of Neurochemistry. 2003. Vol. 84. P. 610–617.
14. Millan M.J. The induction of pain: an integrative review // Prog. Neurobiol. 1999. Vol. 7. P. 151–164.
15. Su R.-B., Li J., Qin B.-Y. A biphasic opioid function modulator: agmatine // Acta Pharmacol. Sin. 2003. Vol. 24, No. 7. P. 631–636.

Поступила в редакцию 25.04.2014.

Особенности анальгетического действия агматина в модели тонической воспалительной боли

И.В. Дюйзен^{1,2}, Т.В. Балашова¹, Н.Е. Ламаш², Л.А. Мнацаканян¹, А.А. Сосин¹, А.О. Быков¹, В.Б. Шуматов¹

¹ Тихоокеанский государственный медицинский университет (690950, г. Владивосток, пр-т Острякова, 2), ² Институт биологии моря им. А.В. Жирмунского ДВО РАН (690041, г. Владивосток, ул. Пальчевского, 17)

Резюме. На модели воспалительной боли установлено, что внутрибрюшинное введение агматина сульфата в дозе 50, 100 и 200 мг/кг уменьшает выраженность болевого синдрома, преимущественно, в фазу тонической боли. Введение агматина интактным животным не изменяет исходный порог температурной болевой чувствительности, но повышает активность «аналгезии, вызванной болью». После инъекции препарат накапливается в спинном, головном мозге и в ликворе. Предполагается, что анальгетическое действие агматина обеспечивается влиянием на центральные механизмы регуляции болевого сигнала.

Ключевые слова: болевая чувствительность, агматина сульфат, анальгезия, нейротрансмиттеры.