

УДК: 549.282:544.532.122:615.451:615.212.3-092.9

Нефедов А.А.

АНАЛЬГЕТИЧЕСКИЙ ЭФФЕКТ НАНОСЕРЕБРА ПРИ НОЦИЦЕПТИВНЫХ РАЗДРАЖЕНИЯХ РАЗЛИЧНОГО ГЕНЕЗА

Государственное учреждение

«Днепропетровская медицинская академия Министерства здравоохранения Украины»

В современной науке многообещающим представляется применение нанотехнологий в различных отраслях практической медицины. Заинтересованность в разработке препаратов на основе наноструктурированного серебра постоянно растет, что связано с фармакологическими свойствами, которые этот металл проявляет на наноразмерном уровне. В работе проведено изучение влияния коллоидного раствора наносеребра на показатели антиноцицептивной активности на моделях электрокожного раздражения корня хвоста крысы и «уксусно-кислые корчи». На модели электрокожного раздражения корня хвоста крысы можно предположить наличие умеренного обезболивающего компонента у коллоидного раствора наносеребра в сравнении с препаратом-референтом диклофенаком натрия. На модели «уксусно-кислые корчи» нанокolloид серебра обладает достаточно выраженными антиноцицептивными свойствами, сопоставимыми с классическим неопиоидным анальгетиком диклофенаком натрия. Ввиду отсутствия доступных данных о обезболивающих механизмах наносеребра представляется возможным дальнейшее, более детальное изучение антиноцицептивной активности на других моделях боли с целью выявления предполагаемых механизмов обезболивания, а также расширения понятия о фармакодинамических и фармакотерапевтических свойствах.

Ключевые слова: наносеребро, ноцицептивные раздражения, анальгетический эффект.

Исследование проведено в рамках договора о научно-техническом сотрудничестве между Национальным медицинским университетом имени А. А. Богомольца, УКР НИИ Нанотехнологий и ресурсосбережения Украины и Государственным учреждением «Днепропетровская медицинская академия МЗ Украины».

Наиболее распространенной и актуальной проблемой является боль – так называемое субъективное ощущение, близкое к ощущению страдания, которое формируется в центральной нервной системе чаще всего во время повреждения тканей организма.

Патогенезу и лечению боли и болевых синдромов посвящено огромное количество работ. Одна из первых концепций боли как явления, предложенная в конце XIX века Фреем, сводилась к тому, что в организме существуют специальные афферентные болевые нервные окончания (рецепторы) и пути, по которым сверхсильное раздражение передается в головной мозг. В 1965 году R. Melzack и P. Wall выдвинули теорию «воротного контроля» боли, согласно которой в спинном мозге специальный механизм контроля регулирует поток импульсов с периферии в вышележащие отделы, «ведущие» уже именно ноцицептивными восприятиями. Аксоны афферентных ноцицептивных волокон заканчиваются в столбах заднего рога спинного мозга. Здесь они контактируют с передаточными нейронами спиноталамического пути, по которому болевая импульсация достигает задних ядер таламуса, а затем соматосенсорного поля коры большого мозга. Клетки второго сегмента заднего рога составляют студенистое вещество (*substantia gelatinosa* – SG). Согласно теории «контроля ворот» (Wall, Melzack: Gate control theory, 1965) короткие вставочные нейроны, составляющие SG, регулируют проведение болевых импульсов от периферических афферентных волокон к зрительному бугру. Активность самих SG-интернейронов подвержена модулирующим влияниям. Они активируются нисходящими ингибиторными нейронами или не-

ноцицептивными афферентными импульсами (например, импульсами тактильной чувствительности) и тормозятся афферентными ноцицептивными C-волоконками. Аналогичная система «контроля ворот» существует и в таламусе. Результаты многочисленных наблюдений и исследований позволили сформировать представление о существовании в организме антиноцицептивной системы, подавляющей восприятие боли. Структуры, относящиеся к этой системе, включают некоторые зоны центрального серого вещества, покрышки моста, миндалевидного тела, гиппокампа, ядер мозжечка, сетчатой формации. Существование антиноцицептивной системы позволяет предполагать, что ее повреждение может сопровождаться появлением боли [16].

В зависимости от ведущего этиопатогенетического механизма различают следующие типы боли:

1. ноцицептивные (соматогенные), связанные с повреждением тканей:
 - а. висцеральные,
 - б. соматические (париетальные);
2. невропатические (неврогенные), обусловленные первичной дисфункцией или повреждением структур нервной системы;
3. рефлекторные (отраженные, иррадиирующие);
4. психогенные, возникающие при расстройствах психики.

Среди вышеперечисленных форм боли наиболее часто отмечается висцеральная. Именно эта боль, лишенная локализации, характеризующаяся длительностью, размытостью и очень слабой степенью регуляции, аккумулирует в себе основные негативные ноцицептивные черты

перцепции в индивидуальном и социальном плане. Эти боли возникают при раздражении висцеральной брюшины либо растяжении капсул внутренних органов: печени, селезенки, почки, мочевого пузыря или спазмом (внезапным растяжением какого-либо участка желудочно-кишечного тракта, мочевыделительной системы). Боли такого типа имеют характер приступов и проявляются так называемыми коликами

[4].

Согласно ступенчатому алгоритму выбора препаратов для купирования хронической боли в животе в зависимости от ее интенсивности и ведущего механизма развития (рис.1) именно анальгетики и спазмолитические препараты удерживают лидирующие позиции при лечении висцеральной боли различной интенсивности, особенно их комбинированное введение.

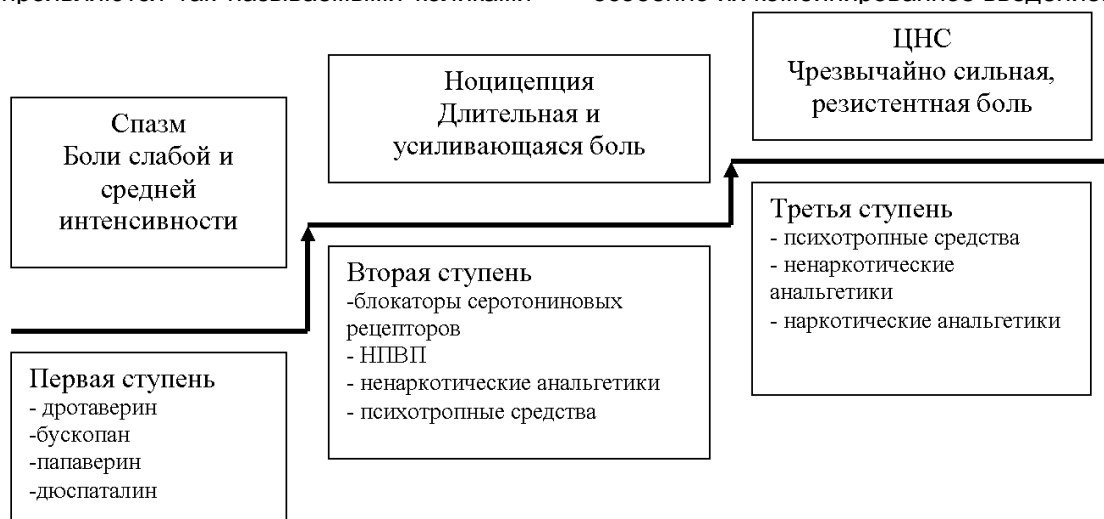


Рис.1 Ступенчатый алгоритм выбора препаратов для купирования хронической боли в животе в зависимости от ее интенсивности и ведущего механизма развития [1].

В современной науке многообещающим представляется применение нанотехнологий в различных отраслях практической медицины, однако они должны пройти не только все барьеры экспериментальных и клинических исследований, углубленного изучения фармакодинамических и фармакокинетических особенностей, но и занять ведущее место в современной медицине [10, 11, 14]. Заинтересованность в разработке препаратов на основе наноструктурированного серебра постоянно растет, что связано с фармакологическими свойствами, которые этот металл проявляет на наноразмерном уровне [13, 15].

Цель работы

Изучение влияния коллоидного раствора наносеребра на показатели антиноцицептивной активности при различных раздражителях. Выбор был остановлен именно на этой новой субстанции так как она перспективна в качестве новых фармакологических свойств и комбинаций.

Материалы и методы

В экспериментальных моделях использовались коллоидные растворы наносеребра, которые приобретались по оригинальной методике в институте биокolloидной химии им. Ф.Д.Овчаренко НАН Украины (директор: доктор химических наук, профессор Ульберг З.Р.). Наночастицы серебра (водный коллоидный раствор): исходные вещества, из которых синтезирован препарат наночастиц: нитрат серебра,

карбонат калия, танин, вода. Форма наночастиц: сферическая. Исходящая концентрация наночастиц серебра: 800мкг/мл за металлом. Размер наночастиц серебра по данным лазерно-корреляционной спектроскопии: (ZAve) 29,9 ± 0,6 нм. Эксперименты проведены на 120 белых нелинейных крысах обоего пола массой 140-270 г, 50 белых нелинейных мышах обоего пола массой 18-22 г [3, 5, 12]. Исследования на животных проводили в соответствии с Методическими рекомендациями ГФЦ МЗ Украины (2001), «Общих этических принципов экспериментов на животных», принятых Первым национальным конгрессом по биоэтике (Киев, 2001), требований Европейской конвенции по защите лабораторных животных (Страсбург, 1986), «Положения об использовании животных в биомедицинских исследованиях» [12].

Для оценки антиноцицептивной активности нами был использован метод электрокожного раздражения корня хвоста крысы, при этом стальные игольчатые электроды (диаметром 0,5 мм) с фиксированным междуэлектродным расстоянием (10 мм) вводились под кожу дистальнее 1 см от корня хвоста. Оценку болевой чувствительности проводили через 2-3 минуты (животное успокаивалось), 30, 60, 90 и 120 минут после появления голосовой реакции (писк, вокализация) в ответ на постепенно возрастающее электрическое раздражение от электростимулятора ЭСП-1. Длительность каждого раздражения не превышала 1 сек [9, 18, 19]. Препараты либо физиологический раствор (кон-

трольная группа) вводились однократно внутривентриально. Для своих исследований мы использовали модель «уксусно-кислых корчей», являющуюся классической в изучении влияния препаратов на висцеральную боль. Методика основывается на введении внутривентриально белым мышам 0,6% раствор уксусной кислоты, которая в свою очередь вызывает выброс проблевых факторов (гистамина, серотонина, лейкотриенов и простагландинов), что в свою очередь проявляется произвольными сокращениями брюшных мышц живота - «корчами», сопровождающихся вытягиванием задних конечностей и выгибанием спины [2, 3]. Препаратом сравнения служил классический ненаркотический анальгетик диклофенак натрия в дозах 5 и 10 мг/кг.

Данные экспериментов обрабатывали с использованием лицензионной программы STATISTICA 6.1., программ StatPlus 2006, OriginPro 7.5 (OriginLab Corporation, США), Microsoft Excel 2003. Математическая обработка включала расчеты средних арифметических значений (M), их ошибок ($\pm m$). Установление подлинности межгрупповых различий по данным экспериментов проводилось с помощью параметрического t -критерия Стьюдента, критерия ранговых сумм Вилкоксона (Wilcoxon Rank-Sum test), критерия Манна-Уитни и метода однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) [6, 7, 8, 17]. Различия считали статистически достоверными при уровне $p < 0,05$. Перед применением параметрических критериев проводилась проверка гипотезы о нормальном законе распределения случайных величин (по критериям Колмогорова-Смирнова с поправкой Лиллифорса и Шопиро-Уилка).

Результаты и их обсуждение

Результаты наших экспериментальных исследований показали, что на модели электрокожного раздражения корня хвоста крыс коллоид наносеребра (3,5 мг/кг) уже на 30 минуте проявил обезболивающий эффект (22,2%), после чего его активность возрастала и проявила свой максимум на 60 минуте (52,0%; $p < 0,05$) по сравнению с исходным фоном. В дальнейшем происходило постепенное восстановление болевого порога (на 90 минуте - 18,7%). Препаратом сравнения диклофенак натрия (10 мг/кг) подтвердил свою выраженную антиноцицептивную активность. Уже на 30 минуте анальгезия составила 50,2% ($p < 0,05$) с пиком обезболивания через полтора часа (82,3%; $p < 0,05$) по сравнению с исходным фоном.

Полученные экспериментальные данные на модели «уксусно-кислые корчи» показали, что коллоидный раствор наносеребра достаточно выражено уменьшал количество произвольных сокращений мышц живота как по сравнению с контролем, так и препаратом-референтом диклофенаком натрия. Так, анальгетическая актив-

ность коллоида составила 82,9%, при этом препарат сравнения диклофенак натрия - 86,4% (10 мг/кг) и 78,5% (5 мг/кг) по сравнению с контрольной группой животных.

Таким образом, на основании вышеизложенного можно сделать следующие выводы:

1. на модели электрокожного раздражения корня хвоста крысы можно предположить наличие умеренного обезболивающего компонента у коллоидного раствора наносеребра в сравнении с препаратом-референтом диклофенаком натрия;

2. на модели «уксусно-кислые корчи» нанокolloид серебра обладает достаточно выраженными антиноцицептивными свойствами, сопоставимыми с классическим опиоидным анальгетиком диклофенаком натрия;

Перспективы дальнейших исследований. Ввиду отсутствия доступных данных о обезболивающих механизмах наносеребра представляется возможным дальнейшее, более детальное изучение антиноцицептивной активности на других моделях боли с целью выявления предполагаемых механизмов обезболивания, а также расширения понятия о фармакодинамических и фармакотерапевтических свойствах.

Литература

1. Баранская Е.К. Боль в животе: клинический подход к больному и алгоритм лечения. Место спазмолитической терапии в лечении абдоминальной боли / Е.К. Баранская // Гастроэнтерология. – 2003. – №14. – С. 45-49.
2. Васильев Ю.Н. Психо- и нейрофизиологический анализ антиноцицептивного эффекта и его роли в фармакологической коррекции эмоционального стресса болевого генеза / Ю.Н. Васильев, А.В. Дмитриев, Ю.Д. Игнатов // Тр. ин-та «Нейрофармакологические аспекты эмоционального стресса и лекарственной зависимости» / Лен. мед. ин-т. – 1978. – С. 27-38.
3. Доклінічні дослідження лікарських засобів (методичні рекомендації) / За ред. Стефанова О.В. – вид. дім «Авіцена», 2002. – 527 с.
4. Кукушкин М.Л. Нейрогенные болевые синдромы и их патогенетическая терапия / М.Л. Кукушкин, В.К. Решетняк, Я.М. Воробейчик // Анестезиология и реаниматология. – 1994. – №4. – С. 36-41.
5. Лабораторные животные. Разведение, содержание, использование в эксперименте / И.П. Западнюк, В.И. Западнюк, Е.А. Захария [и др.]. – К. : Вища школа. Головное издательство, 1983. – С. 383.
6. Лакин Г.Ф. Биометрия / Лакин Г.Ф. – М. : Высшая школа, 1990. – 293 с.
7. Лапач С.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием EXCEL / С.Н. Лапач, А.В. Чубенко, П.Н. Бабич. – К. : Морион, 2001. – 408 с.
8. Минцер О.П. Методы обработки медицинской информации / О.П. Минцер, Б.Н. Угаров, В.В. Власов. – К. : Вища школа, 1982. – 160с.
9. Михайлов В.А. Болевой синдром / В.А. Михайлов, Ю.Д. Игнатов. – Л. : Медицина, 1990. – 336 с.
10. Нанонаука, нанобіологія, нанофармація. Монографія / [І.С. Чекман, З.Р. Ульберг, В.О. Маланчук, Н.О. Горчаковата ін.]. – К. : Поліграф плюс, 2012. – 328 с.
11. Нанофармакологія / І.С. Чекман. – К. : Задруга, 2011. – 424 с.
12. Кожем'якін Ю.М. Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та робот і з ними / Ю.М. Кожем'якін, О.С. Хромов, М.А. Філоненко, Г.А. Сайретдінова. – К., 2002. – 155 с.
13. Нефедов А.А. Изучение влияния коллоидного раствора наносеребра на ноцицепцию в эксперименте / А.А. Нефедов // Материалы Восточноевропейского конгресса по боли, 18-20 сентября 2013 г. – Ялта, Украина – С. 35.
14. Нефедов А.А. Наномедицина – от теории к практике / А.А. Нефедов, В.И. Мамчур // Тези доповідей VI Національного з'їзду фармакологів України, 10-12 жовтня 2011 р. – К., Україна. – С. 233.
15. Нефедов О.О. Вплив колоїдного розчину наносрібла на висцеральний біль в експерименті / О.О. Нефедов, Т.А. Гайдук, В.С. Смандич [та ін.] // Тезиси Національного науково-практичної

- конференции с международным участием «Болевые синдромы в медицинской практике», 19-20 октября 2011 г. – К., Украина. – С. 14.
16. Петров О.В. Информационная концепция боли / О.В.Петров, В.В. Лихванцев, В.В. Субботин [и др.] // Международный медицинский журнал. – 1998. – №2. – С. 198-210.
17. Стрелков Р.Б. Статистические таблицы для ускоренной колликативной оценки фармакологического эффекта / Р.Б. Стрелков // Фармакология и токсикология. – 1986. – № 4. – С. 100-104.
18. D'Amour F.E. A method for determining loss of pain sensation / F.E. D'Amour, D.L. Smith // J.Pharmacol. and Exp.Ther. – 1941. – V. 72. – P. 74-79.
19. Eddy N.B. Synthetic Analgesics: Dithienylbutenyl and dithienylbutylamines / N.B. Eddy, D. Leimbach // Y. Pharmacol. Exp. Ther. – 1953. – V. 107. – P. 385-389.

Реферат

АНАЛГЕТИЧНИЙ ЕФЕКТ НАНОСРІБЛУ ПРИ НОЦИЦЕПТИВНОГО РОЗДРАТУВАННЯ РІЗНОГО ГЕНЕЗУ

Нефедов А.А.

Ключові слова: наносрібло, ноціцептивніе роздратування, аналгетичний ефект.

У сучасній науці багатообіцяючим уявляється застосування нанотехнологій в різних галузях практичної медицини. Зацікавленість у розробці препаратів на основі наноструктурованого срібла постійно зростає, що пов'язано з фармакологічними властивостями, які цей метал проявляє на нанорозмірному рівні. В роботі проведено вивчення впливу колоїдного розчину наносрібла на показники антиноціцептивної активності на моделях електрошкірного подразнення кореня хвоста щура і «оцто-кислі корчі». На моделі електрошкірного подразненні кореня хвоста щура можна припустити наявність помірного знеболюючого компоненту колоїдного розчину наносрібла у порівнянні з препаратом - референтом диклофенаком натрію. На моделі «оцето-кислі корчі» нанокolloїд срібла має досить виражені антиноціцептивні властивості порівняно з класичним неопіоїдним анальгетиком диклофенаком натрію. Через відсутність доступних даних про знеболюючі механізми наносрібла представляється можливим подальше, більш детальне вивчення антиноціцептивної активності на інших моделях болю з метою виявлення передбачуваних механізмів знеболювання, а також розширення поняття про фармакодинамічні та фармакотерапевтичні властивості.

Summary

ANALGESIC EFFECT OF NANOSILVER UNDER NOCICEPTIVE STIMULATIONS OF DIFFERENT GENESIS

Nefedov A.A.

Key words: nociceptive pain, pain syndrome, analgesics, nano silver, colloid solution, animals, electrodermal stimulation.

Up-to-date science demonstrates promising application of nanotechnologies in various fields of applied medicine. The commitment in the development of products based on nanostructured silver is constantly growing due to the pharmacological properties that the metal shows at the nanolevel. Silver has long been known as a potent antibacterial agent. However its use has exploded in recent years, not only in as an antibacterial agent but as a potent pain reliever. Pain, pain syndrome tends to be very difficult to manage because of its complex natural history, unclear aetiology and poor response to therapy. There is no clear definition but it is characterised by pain which persists despite adequate time for healing.

Nociceptive pain occurs due to the ongoing activation of peripheral nociceptors leading to pain from non-neural tissue damage. Although the distinction between visceral pain and somatic pain is not clearcut, there are important differences in the mechanism, perception, and psychological processing of pain originating from the viscera and that originating from other tissues. Most solid viscera such as the liver are not sensitive to pain, and pain in a viscera is not necessarily associated with injury but may be due to distension or stretching.

The involvement of the nervous system in pain can be at various levels: nerves, nerve roots, and central pain pathways in the spinal cord and the brain. Truncal neuropathy, an important cause of chest or abdominal pain, is usually unilateral and may be described as "burning" or a "deep ache". The zone of hyperalgesia, which is dermatomal in distribution, does not cross the midline. The most common cause is diabetes.

Central pain is a term used to describe pain initiated or caused by a primary lesion or dysfunction in the CNS and can be included under the broad term of neuropathic pain. Neuropathic pain is a form of chronic pain, which is persistently generated and serves no beneficial function for the affected individual.

The research was aimed to study the effect of nanosilver colloid solution on the indicators of the antinociceptive activity in models of electrodermal stimulation of rat tail root and "acetic acid writhing". In the modeled electrodermal stimulation of rat tail root we observed mild analgesic effect produced by colloidal solution of nanosilver in comparison with diclofenac sodium used a referent drug. On the model of "acetic acid writhing" nanocolloids of silver demonstrates fairly pronounced anti-nociceptive properties comparable to the classical non-opioid analgesic diclofenac sodium. Due to the lack of available data on pain mechanisms nanosilver requires more detailed study of its antinociceptive activity in other models of pain in order to identify the alleged mechanisms of anesthesia, as well as to clear the spectrum of its pharmacological and pharmacodynamic properties.