

T. V. KAVA, O. E. YADLOVSKIY

Bogomolets National Medical University, Kyiv

TAIL-FLICK-EST – ASPECTS USE IN PHARMACOLOGICAL RESEARCHES

Key words: Tail-Flick, nociception, analgesics, pharmacological research

Больові синдроми є одними з найпоширеніших патологічних станів у клінічній практиці. Вони часто призводять до важких страждань, інвалідизації і, як наслідок, до зниження якості життя [1, 2, 3]. Тому проблема лікування та регуляції болю є однією з найактуальніших у сучасній медицині. Серед сучасних методів знеболення одне з центральних місць посідає фармакотерапія. Для терапії болю використовують широкий арсенал лікарських засобів, провідне місце серед яких мають аналгетики – наркотичні і ненаркотичні. Наркотичні аналгетики (морфіну гідрохлорид, фентаніл, бупренорфін та ін.), незважаючи на свою високу ефективність за гострих і хронічних болях, мають регламентоване і обмежене застосування. Ненаркотичні аналгетики (аналгетики-антипіретики і нестероїдні протизапальні засоби (НПЗЗ)), хоча і не спричиняють звикання і пристрасті, проте характеризуються помірною знеболювальною активністю та широким спектром побічних реакцій, що обмежує сферу їх застосування [4]. Ад'ювантні аналгетики, знеболювальний ефект яких пов'язаний із впливом на ГАМК-бензодіазепінові, дофамінові, адренергічні, серотонінові, гістамінові та інші рецептори, виявляють значний ефект лише за певних видів болю (невропатичний біль та ін.). Як правило, їх застосовують для купування болю, рефрактерного до традиційних аналгетиків, для зниження доз традиційних аналгетиків, зменшення побічних ефектів і лікування інших симптомів під час терапії болю [5]. Тому пошук нових знеболювальних засобів, що переважають існуючі за ефективністю та/чи безпекою, важливий та актуальний.

Для пошуку та поглибленого вивчення знеболювальної активності в експерименті використовують значний спектр методик *in vivo*, в яких застосовують хімічне, термічне чи механічне ноцицептивне подразнення [4, 6].

Метою роботи є аналіз науково-методичних підходів оцінки антиноцицептивної активності знеболювальних засобів за допомогою тесту Tail-flick.

Матеріали та методи дослідження

Дослідження виконували з використанням наукометричних баз даних у мережі інтернет: PubMed, Medline, Europe PMC, FDA, EMA, Google Scholar. У рамках дослідження проаналізовано методи підходу до планування, проведення експерименту, інтерпретації отриманих даних. Використано ретроспективний, логічний та системно-аналітичний методи дослідження.

Результати дослідження та обговорення

Методи термічної ноцицептивної стимуляції посідають одне із центральних місць у разі вивчення антиноцицептивної активності [6]. Показано, що методи термічного подразнення шкіри не характеризують вісцеральний біль чи ноцицепцію опірно-рухливого апарату. Стимуляція терморецепторів призводить до активації низки ланок ноцицептивної системи – терморецепторів, ноцирецепторів, і нарешті (можливо) «парадоксальних холодкових» рецепторів [7].

Серед методів вивчення термічної ноцицепції одне з центральних місць займає метод Tail-flick [9]. Метод Tail-flick, подібно тесту Hot Plate, використовують для вивчення больової реакції у тварин (гризуни – миші, щури). Цей метод було описано у 1941 р. D'Amour та Smith, і з того часу тест широко застосовують як у скринінгових дослідженнях, так і для поглибленого вивчення ефективності анагетичних засобів, а також в фундаментальних дослідженнях проблеми болю [8]. У 1950-х роках у серії досліджень було проведено верифікацію методу Tail-flick, суть якої полягала в кореляції ноцицептивної чутливості тварин (щури) та людей. Отримані дані показали відповідність ноцицептивного сприйняття термічного стимулу тваринами та больової чутливості у людей відносно термічного подразнення [9, 10]. Таким чином доведено, що метод Tail-flick є спрощеною версією методу оцінки інтенсивності болю у пацієнтів [10].

Як ноцицептивний подразник у методі Tail-flick використовують теплове (на сьогодні інфрачервоне) випромінювання. Інфрачервоне випромінювання являє собою відносно-селективний стимул для ноцирецепторів і має перевагу порівняно з іншими видами термічної стимуляції – відсутність тактильного стимулу. Цей метод визначення больової чутливості простий та швидкий. У процесі розроблення методу авторами було виявлено низький рівень індивідуальних відмінностей у разі вивчення анагезуючої дії сполук, що розрізняються як за хімічною будовою, так і за механізмом дії (зокрема наркотичних анагетиків) [8]. Метод Tail-flick може бути альтернативою низці методів термічної ноцицептивної стимуляції («імерсія хвоста» та ін.) [11]. Для виконання експерименту за методом Tail-flick використовують гризунів (бажано щурів). Для проведення вимірювань тварину фіксують, джерело інфрачервоного випромінювання фокусується на хвості тварини і запускає таймер. Коли тварина відсмикує хвіст, таймер зупиняється і реєструється час запису (латентний період), який є мірою порогу больової чутливості [8]. Як правило, тривалість вихідного періоду латентної реакції становить 2–10 сек (на практиці частіше за все 2–4 сек) [13]. Збільшення періоду реакції після введення досліджуваної речовини інтерпретують як антиноцицептивну активність. Досвід експериментальних досліджень свідчить, що небажано подовжувати дію випромінювання більше 20 сек, оскільки це може спричинити опік на шкірі хвоста [11, 14]. Вважають, що метод Tail-flick більшою мірою ефективний для визначення активності опіоїдних анагетиків. У серії експериментів показано, що спинальна відповідь на ноцицептивне подразнення у разі застосування методики Tail-flick була більш чутлива до морфіну, опіоїдних анагетиків порівняно з супраспинально опосередкованою відповіддю на тесті Hot Plate. Причому діапазон дисперсії отриманих даних в тесті Tail-flick був вірогідно нижчий, ніж на інших моделях термічної ноцицепції [11]. У дослідях із використанням морфіну показано, що дистальна частина хвоста щурів більш чутлива до термостимуляції, ніж проксимальна [14]. Стимуляція середньої частини хвоста виявляє проміжний ефект. Низка авторів пов'язують цей ефект із тим, що теплове випромінювання з більшою швидкістю досягає ноцирецепторів кінчика хвоста, де шкіра більш тонка, однак на сьогодні немає оптимального пояснення цього феномена [11, 12].

Метод має низку переваг, серед яких: його простота, відсутність спеціальних навичок у експериментатора, ефективність для скринінгу опіоїдних та інших анагетиків, точність результатів експерименту та помірні витрати часу на експеримент. Водночас, метод має низку недоліків, а саме: у тварин спостерігають звикання до ноцицептивного подразнення за повторної стимуляції, особливо у разі скорочення інтервалів між вимірюваннями та збільшення інтенсивності випромінювання. Слід зазначити, що метод Tail-flick не виявив відповідну ефективність під час вивчення антиноцицептивної активності агоністів-антагоністів опіоїдних рецепторів [11].

Існує низка модифікацій методу, що включає фіксацію та реєстрацію горизонтальних і вертикальних відсмикувань хвоста гризунів, дослідження знеболювальної дії без фіксації тварин та ін. [15, 14]. Деякі автори для більш повної оцінки та інтерпретації даних використовують додатково електрофізіологічну оцінку рухових реакцій дослідних тварин, однак цей підхід не було прийнято більшістю дослідників [11].

Для одержання достовірних даних та вірної інтерпретації результатів експерименту дослідник має враховувати широкий спектр методологічних, фізіологічних, фармакологічних, фармацевтичних та інших впливів, що можуть зумовлювати якість отриманих даних. Так, для методу Tail-flick показано, що реакція дослідження руху хвоста тварини змінюється залежно від інтенсивності випромінювання джерела тепла – коли випромінювання більш інтенсивне, нахил кривої температури крутіший, і, як наслідок, латентний період скорочується [16, 11]. Аналогічним чином латентний період реакції залежить і від площі шкіри, на яку впливало джерело випромінювання. Коли площа ноцицептивної стимуляції збільшується – час реакції тварин на подразнення зменшується [17, 11]. Однак слід вказати на збільшення латентного періоду реакції за стимуляції дистального відділу хвоста щурів, у тому числі у випадках, якщо аферентних сигналів більше [11, 18]. Таким чином, вірогідність одержаних даних буде залежати як від частини хвоста, що стимулюється, так і від точності місця повторних ноцицептивних стимулів.

Велике значення має температура випромінювання, що використовують в експерименті. Показано значні зміни латентного періоду реакції в діапазоні температури від 40 до 46–52 °C у інтактних щурів. У разі використання вищих температур латентний період вирівнюється [19]. Тому особливе значення має калібрування джерела випромінювання. Показано, що чутливість шкіри відновлюється до нормального рівня після 15-хвилинної перерви між ноцицептивними стимулами, що потрібно враховувати під час складання регламенту вимірювань при проведенні експерименту [19].

Результати, одержані під час використання методу Tail-flick, не завжди характеризують переважно спинальний рівень ноцицепції, особливо коли «крутизна» нагріву проходить повільно і латентний період у інтактних тварин досить значний. Вважають, що величина латентного періоду у інтактних тварин тривалістю 4–5 сек характеризує спинальний рівень ноцицепції, а зростання латентного періоду до 10 сек опосередковане вищими нервовими структурами за участю, наприклад, кортико-бульбарного тракту [20, 21, 22]. Незважаючи на те, що метод Tail-flick у деяких випадках характеризує супраспинальний компонент болю – модель визначає переважно спинальний рівень ноцицепції [21]. У низці експериментів показано участь безмієлінових С-нервових волокон у проведенні больового збудження за використання цього методу термічної стимуляції [23, 11].

Значний вплив на тривалість латентного періоду можуть здійснювати епізоди уренації та дефекації, які суттєво його модулюють, особливо за повторних вимі-

рувань із короткими проміжками часу між ними [11]. Досить часто експериментатор використовує додаткове ноцицептивне подразнення у тварин, але показано, що моделі гіпералгезії не впливають на латентність методу [15].

Окремо слід вказати на особливості повторних вимірювань під час вивчення знеболювальної активності при дослідженні хронічної ноцицепції. Так, у разі моделювання хронічної ноцицепції на спинальному рівні, спостерігають як скорочення латентного періоду відсмикування хвоста, так і зменшення його коливань у тварин обох статей, що пояснюють можливістю центральної сенсibiliзації [24].

На основі методу існує спеціальний прилад «Tail-flick», що виробляється низкою виробників лабораторного обладнання і дає змогу проводити вимірювання з високою точністю [25, 26]. В останні роки з'явилися дані щодо використання окремих модифікацій лабораторних приладів для вивчення різних видів термічної ноцицепції одночасно, які, в тому числі, відтворюють тест Tail-flick [27]. Зокрема це розширює можливість вивчення термічної ноцицепції у разі скринінгу, розроблення нових знеболювальних засобів, а також фундаментальних досліджень.

Висновки

1. Метод Tail-flick є одним з найадекватніших методів для вивчення центрального (спинального та певною мірою супраспинального) компоненту знеболення. Особливо інформативним метод є у разі вивчення опіоїдного компонента знеболювальних засобів.

2. Точність та адекватність експериментальних даних залежать від особливостей постановки експерименту та регламенту проведення досліджень.

Список використаної літератури

1. *Есин Р. Г., Есин О. Р., Ахмадеева Г. Д., Салихова Г. В.* Боль в спине. – М.: Медицина, 2010. – 272 с.

2. *Dieleman J. P., Kercklaan J., Huygen F. J. P. M. et al.* Incidence rates and treatment of neuropathic pain conditions in the general population // *Pain*. – 2008. – V. 137, N 3. – P. 681–688.

3. *Hempstead K., Nurmikko T. J., Johnson R. W. et al.* Which Treatment for Postherpetic Neuralgia? // *PloS Medicine*. – 2005. – V. 2, N 7. – P. 238.

4. *Goodman A., Gilman L.* The pharmacological basis of Therapeutic (9th ed.). – New York: McGraw-Hill., 1996. – Ch. 27. – P. 836–932.

5. *Каннер Р.* Секреты лечения боли. Пер. с англ. – М.: «Издательство БИНОМ», 2006. – 400 с.

6. Recognition and Alleviation of Pain in Laboratory Animals. National Research Council (US) Committee on Recognition and Alleviation of Pain in Laboratory Animals. – Washington (DC): National Academies Press (US), 2009 [Electronic resource]. – Access mode: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK32655/>

7. *Sinclair J. G., Main C. D., Lo G. F.* Spinal vs supraspinal actions of morphine on the rat tail-flick reflex // *Pain*. – 1988. – V. 33. – P. 357–362.

8. *D'Amour F. E., Smith D. L.* A method for determining loss of pain sensation // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* – 1941. – V. 72, N 1. – P. 74–78.

9. *Hardy J. D., Stoll A. M., Cunningham D. et al.* Responses of the rat to thermal radiation // *Am. J. Physiol.* – 1957. – V. 189. – P. 1–5.

10. *Hardy J. D., Wolff H. G., Goodell H.* Studies on pain. A new method for measuring pain threshold: observation on spatial summation of pain // *J. Clin. Invest.* – 1940. – V. 19. – P. 649–657.

11. *Le Bars D., Gozariu M., Cadden S. W.* Animal Models of Nociception // *Pharmacol. Rev.* – 2001. – V. 53. – P. 597–652.
12. *Gårdmark M., Höglund A. U., Hammarlund-Udenae M.* Aspects on Tail-Flick, Hot-Plate and Electrical Stimulation Tests for Morphine Antinociception // *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology.* – 1998. – V. 83, N 6. – P. 252–258.
13. *Raffa R. B., Friderichs E., Reimann W. et al.* Opioid and nonopioid components independently contribute to the mechanism of action of tramadol, an «atypical» opioid analgesic // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* – 1992. – V. 260. – P. 275–285.
14. *Milind P., Monu Y.* Laboratory models for screening analgesic // *Inter. Res. J. Pharmacy.* – 2013. – V. 4, N 1. – P. 15–19.
15. *Beran T., Vaculín Š., Franěk M.* Comparison of two methods of tail flick latency measurement in rat // *Bolest.* – 2010. – V. 13, N 3. – P. 124–127.
16. *Granat F. R., Saelens J. K.* Effect of stimulus intensity on the potency of some analgetic agents // *Arch. Int. Pharmacodyn. Ther.* – 1973. – V. 205. – P. 52–60.
17. *Kawakita K., Funakoshi M.* A quantitative study on the tail flick test in the rat // *Physiol. Behav.* – 1987. – V. 39. – P. 235–240.
18. *Ness T. J., Jones S. L., Gebhart G. F.* Contribution of the site of heating to the variability in the latency of the rat tail flick reflex // *Brain Res.* – 1987. – V. 426. – P. 169–172.
19. *Carstens E., Wilson C.* Rat tail flick reflex: magnitude measurement of stimulus-response function, suppression by morphine and habituation // *J. Neurophysiol.* – 1993. – V. 70, N 2. – P. 630–639.
20. *King T. E., Joynes R. L., Grau J. W.* Tail-flick test: II. The role of supraspinal systems and avoidance learning // *Behav. Neurosci.* – 1997. – V. 111. – P. 754–767.
21. *Vogel Gerhard H.* Drug Discovery and Evaluation. Pharmacological Assays Second Completely Revised, Updated, and Enlarged Edition. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2002. – 1026 p.
22. *Kříž N., Yamamotová A., Tobiáš J., Rokyta R.* Tail-Flick Latency and Self-Mutilation Following Unilateral Deafferentation in Rats // *Physiol. Res.* – 2006. – V. 55. – P. 213–220.
23. *Danneman P. J., Kiristsy-Roy J. A., Morrow T. J., Casey K. L.* Central delay of the laser-activated tail-flick reflex // *Pain.* – 1994. – V. 58. – P. 39–44.
24. *Tjølsen A., Lund A., Berge O. G., Hole K.* An improved method for tail-flick testing with adjustment for tail-skin temperature // *J. Neurosci. Methods.* – 1989. – V. 26, N 3. – P. 259–265.
25. *Vogel Gerhard H.* Drug Discovery and Evaluation. Pharmacological Assays Second Completely Revised, Updated, and Enlarged Edition. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2002. – 1026 p.
26. © 2017 Harvard Apparatus [Electronic resource]. – Access mode: http://www.ugobasile.com/catalogue/category/pain_and_inflammation/product/37370_plantar_test_hargreaves_apparatus_.html
27. Plantar Test Apparatus (Hargreaves Method) and Tail Flick Test in 1 [Electronic resource]. – Access mode: https://www.iitcinc.com/Plantar_tailflick.html

Надійшла до редакції 2 березня 2018 року.

Т. В. Кава, О. Е. Ядловский

Национальный медицинский университет им. А. А. Богомольца, г. Киев

ОСОБЕННОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ МЕТОДА TAIL-FLICK В ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ

Ключевые слова: Tail-flick, ноцицепция, анальгетики, фармакологические исследования

А Н Н О Т А Ц И Я

Для разработки анальгетиков, превосходящих по эффективности и/или безопасности существующие, фундаментальных исследований, изучения особенностей фармакодинамики известных анальгетиков важна и актуальна адекватная оценка антиноцицептивной активности.

Целью работы является анализ научно-методических подходов оценки антиноцицептивной активности обезболивающих средств с помощью теста Tail-flick.

Исследования выполнены с использованием наукометрических баз данных в сети интернет: PubMed, Medline, Europe PMC, FDA, EMA, Google Scholar. В рамках исследования проанализированы методы подхода к планированию, проведению эксперимента, интерпретации полученных данных. Используются ретроспективный, логический и системно-аналитический методы исследования.

В рамках исследования проанализированы научные физиологические, фармакологические, экспериментальные данные оценки обезболивающей активности на модели ноцицептивной стимуляции Tail-flick.

Метод имеет ряд преимуществ, среди которых: его простота, отсутствие специальных навыков у экспериментатора, эффективность для скрининга опиоидных и других анальгетиков, точность результатов эксперимента и умеренный расход времени на эксперимент. Одновременно с этим, метод имеет ряд недостатков, а именно: у животных наблюдается привыкание к ноцицептивному раздражению при повторной стимуляции, особенно при сокращении интервалов между измерениями и при увеличении интенсивности излучения. Следует отметить, что метод Tail-flick не выявил соответствующую эффективность при изучении антиноцицептивной активности агонистов-антагонистов опиоидных рецепторов.

Таким образом, метод Tail-flick является одним из наиболее адекватных методов для изучения центрального (спинального, в определенной степени супраспинального) компонента обезболивания. Особенно информативным метод является при изучении опиоидного компонента обезболивающих средств. Точность и адекватность экспериментальных данных зависят от особенностей постановки эксперимента и регламента проведения исследований.

T. V. Kava, O. E. Yadlovskiy

Bogomolets National Medical University, Kyiv

TAIL-FLICK-EST – ASPECTS USE IN PHARMACOLOGICAL RESEARCHES

Key words: Tail-Flick, nociception, analgesics, pharmacological research

A B S T R A C T

The adequate assessment of anti-nociceptive activity is important. This is necessary for development of new analgesics that exceed effectiveness and/or safety of existing analgesics, fundamental research, study specifics pharmacodynamics of known analgesics.

Purpose of work is scientific and methodical analyze approaches to study of antinociceptive activity with Tail-flick test.

The study was carried out using databases on the Internet using science-based databases: PubMed, Medline, Europe PMC, FDA, EMA, Google Scholar. Methods of approach to planning, conducting an experiment, interpretation of the received data were analyzed. It were use retrospective, logical and system-analytical research methods.

It has analyzed the level scientific physiological, pharmacological, and experimental data of anesthetic activity evaluation of Tail-flick-test. The method has several advantages, among them: simplicity, lack special skills from experimenter, effectiveness for screening opioid and other analgesics, the accuracy of the results of the experiment and moderate time consumption of experiment. But method has some disadvantages, namely: adaptation animals to nociceptive irritation (re-stimulation, especially when reducing the intervals between measurements; increase intensity radiation). Tail-flick-test did not reveal appropriate efficacy study anti-nociceptive activity of opioid receptor antagonist- agonists.

Thus, the Tail-flick test is one of the most adequate methods for Tail-flick-test is informative to study of the opioid component of analgesics. The accuracy and adequacy of the experimental data depends on the characteristics of the experiment setting and the rules for conducting the research.

Електронна адреса для листування з авторами: yadlovskiy@online.ua