



Влияние цикло-L-пролилглицина на пороги болевой реакции и морфин-индуцированную анальгезию у инбредных мышей линий BALB/c и C57Bl/6

Надорова А. В., Колясникова К. Н., Чернякова И. В., Колик Л. Г.

ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий»,
Москва, Российская Федерация

Аннотация

Актуальность. Цикло-L-пролилглицин (ЦПГ), обнаруженный как эндогенное соединение в ЦНС, вовлечён в формирование реакции на эмоционально-стрессовое воздействие у животных с выраженной реакцией страха и обладает анальгетическим действием в опытах *in vivo*, однако данные о зависимости антиноцицептивного действия ЦПГ от генотипа в настоящее время отсутствуют.

Цель работы — оценить влияние экзогенного ЦПГ на пороги острой болевой реакции и вызываемую морфином анальгезию у мышей с противоположной реакцией на эмоциональный стресс.

Методы. Эксперименты выполнены на инбредных мышцах-самцах линий BALB/c ($n = 207$) и C57Bl/6 ($n = 204$). Для оценки анальгетического действия ЦПГ использовали тест «уксусные корчи» (0,75 % раствор уксусной кислоты, в/б) и тест «горячая пластина» ($55 \pm 0,5$ °C).

Результаты. ЦПГ в дозах 1, 2 и 4 мг/кг, в/б, статистически значимо снижал количество корчей у мышей BALB/c и C57Bl/6, при этом действие ЦПГ было сопоставимо с эффектом диклофенака в дозе 10 мг/кг, в/ж. При термической стимуляции выявлены межлинейные различия в антиноцицептивном действии ЦПГ, которое в максимально эффективной дозе 2 мг/кг было более выраженным у «стресс-неустойчивых» мышей BALB/c по сравнению с мышами C57Bl/6. ЦПГ в дозе 2 мг/кг ослаблял морфин-индуцированную анальгезию при термической стимуляции у мышей BALB/c и C57Bl/6 на 30, 60 и 90 мин наблюдения.

Закключение. Установленная зависимость центрального антиноцицептивного эффекта ЦПГ от генотипа имеет важное значение в контексте биомедицинских исследований выявления боли и обеспечения контроля над ней с помощью фармакологических корректоров.

Ключевые слова: цикло-L-пролилглицин; болевая реакция; морфин; анальгезия; мыши BALB/c и C57Bl/6

Для цитирования:

Надорова А. В., Колясникова К. Н., Чернякова И. В., Колик Л. Г. Влияние цикло-L-пролилглицина на пороги болевой реакции и морфин-индуцированную анальгезию у инбредных мышей линий BALB/c и C57Bl/6. *Фармакокинетика и фармакодинамика*. 2024;(3):57-66. <https://doi.org/10.37489/2587-7836-2024-3-57-66>. EDN: LOMGYE

Поступила: 20.08.2024. В доработанном виде: 20.09.2024. Принята к печати: 27.09.2024. Опубликовано: 30.09.2024.

Effect of cyclo-L-prolylglycine on pain response thresholds and morphine-induced analgesia in inbred BALB/c and C57Bl/6 mice

Anna V. Nadorova, Ksenia N. Koliasnikova, Irina V. Chernyakova, Larisa G. Kolik

Federal research center for innovator and emerging biomedical and pharmaceutical technologies, Moscow, Russian Federation

Abstract

Relevance. Cyclo-L-prolylglycine (CPG), discovered as an endogenous compound in the central nervous system, is involved in the formation of a reaction to emotional stress in rodents with a pronounced fear reaction and has an analgesic effect *in vivo*. However, data on the dependence of the antinociceptive effect of CPG on genotype are currently unavailable.

Objective. To evaluate the effect of exogenous CPG on the thresholds of acute pain response and morphine-induced analgesia in mice with an opposite reaction to emotional stress.

Methods. The experiments were performed on inbred male mice BALB/c ($n = 207$) and C57Bl/6 ($n = 204$). To assess the analgesic effect of CPG, the "writhing test" (0.75 % acetic acid solution, i.p.) and the "hot plate" (55 ± 0.5 °C).

Results. CPG at doses of 1, 2, and 4 mg/kg, i.p., significantly reduced the number of writhings in BALB/c and C57Bl/6 mice, whereas the effect of CPG was comparable to that of diclofenac at a dose of 10 mg/kg per os. During thermal stimulation, interline differences in the antinociceptive effect of CPG were revealed, which was more pronounced at a maximum effective dose of 2 mg/kg in "stress-non-resistant" BALB/c mice compared with C57Bl/6 mice. CPG at a dose of 2 mg/kg weakened morphine-induced analgesia during thermal stimulation in BALB/c and C57Bl/6 mice for 30, 60, and 90 minutes of observation.

Conclusion. The established dependence of the central antinociceptive effect of CPGs on genotype is important in the context of biomedical research on pain detection and control using pharmacological correctors.

Keywords: cyclo-L-prolylglycine; pain response; morphine; analgesia; BALB/c and C57Bl/6 mice

For citations:

Nadorova AV, Koliasnikova KN, Chernyakova IV, Kolik LG. Effect of cyclo-L-prolylglycine on pain response thresholds and morphine-induced analgesia in inbred BALB/c and C57Bl/6 mice. *Pharmacokinetics and pharmacodynamics*. 2024;(3):57-66. (In Russ). <https://doi.org/10.37489/2587-7836-2024-3-57-66>. EDN: LOMGYE

Received: 20.08.2024. Revision received: 20.09.2024. Accepted: 27.09.2024. Published: 30.09.2024.

Введение / Introduction

Согласно клиническим исследованиям, пациенты нередко проявляют разную чувствительность к боли, включая неодинаковые реакции на сходные травмы или патологические состояния, что подтверждается многочисленными данными об общих генетических факторах, лежащие в основе фенотипов боли [1–4], и предполагает наличие зависимости отдельных компонентов болевой реакции от генетических вариаций.

Под острой ноцицепцией обычно понимают передачу ноцицептивных сигналов от периферических нервных окончаний (ноцицепторов) к ЦНС, сообщаящую о наличии, типе, локализации и величине ноцицептивного раздражителя [5, 6], и имеет решающее значение для выживания, поскольку предупреждает о возможном повреждении тканей. Доступная литература указывает на важность генотипа в опосредовании базальной ноцицептивной реакции и определении чувствительности к фармакологическим препаратам у лабораторных животных [7, 8]. В работе *Mogil JS et al.* охарактеризована генетическая изменчивость ноцицепции у домового мыши (*Mus musculus*). Авторы протестировали 11 инбредных линий мышей (129/J, A/J, AKR/J, BALB/cJ, C3H/HeJ, C57BL/6J, C58/J, CBA/J, DBA/2J, RIIS/J и SM/J), используя 12 общепринятых методов оценки ноцицептивной реакции, которые показали наличие межлинейных различий в каждом тесте и наследуемость от умеренной до высокой ($h^2 = 0,30 - 0,76$) [7]. Последующие исследования, расширив число используемых тестов ноцицептивной реакции, в конечном итоге выявили 5 основных «кластеров» или «типов» ноцицепции и обработки боли, включая базовые значения термической ноцицепции, спонтанной реакции на химические раздражители, термической гиперчувствительности, механической гиперчувствительности и афферентно-зависимой гиперчувствительности [9, 10]. Аналогичным образом, исследования инбредных мышей выявили различия в чувствительности к анальгетическим средствам [11]. Учитывая значительные межлинейные отличия в ответ на стимуляцию ноцицепторов [12], можно было бы предположить, что наиболее чувствительные к боли мыши должны быть менее чувствительны к обезболивающим средствам, однако результаты исследования продемонстрировали противоположный эффект [13]. Линии мышей, которые имели более низкий болевой порог, оказались менее чувствительны к морфину, а линии мышей с высоким болевым порогом продемонстрировали большую чувствительность к обезболивающему действию морфина [13, 14], что подтверждает роль генотипа в различной чувствительности к боли и/или антиноцицепции [14].

Повышенная чувствительность к острой боли считается фактором риска развития хронической боли [15, 16], поэтому понимание и учёт генетического компонента, опосредующего биологическую природу

термической и химической болевой чувствительности, крайне важно, в том числе при поиске новых обезболивающих средств для формирования персонализированного подхода к фармакологической коррекции боли разного происхождения.

Сконструированный в начале 90-х годов предполагаемый пептидный прообраз пиретама — цикло-L-пролилглицин (ЦПГ) [17] впоследствии был обнаружен как эндогенное соединение в головном мозге крыс [18]. Согласно результатам исследований *in vivo*, ЦПГ вовлечён в формирование реакции на эмоционально-стрессовое воздействие у животных с выраженной реакцией страха [19], при этом проявление антигипоксических, нейропротективных и антидепрессантоподобных эффектов ЦПГ регистрируется в большей степени у «стресс-неустойчивых» мышей BALB/c, характеризующихся низким содержанием эндогенного ЦПГ в целом мозге и его структурах по сравнению со «стресс-устойчивыми» мышами C57Bl/6 [20, 21].

При изучении спектра фармакологической активности ЦПГ в работе *Ferro JN et al.* впервые было показано, что ЦПГ при системном введении обладает анальгетическим действием *per se* при стимуляции ноцицепторов у мышей [22], однако данные о зависимости антиноцицептивного действия ЦПГ от генотипа в настоящее время отсутствуют.

Цель / Objective — оценить влияние ЦПГ на пороги болевой реакции при химической и термической стимуляции, а также на вызываемую морфином анальгезию у инбредных мышей BALB/c и C57Bl/6.

Материалы и методы/ Materials and methods

Животные / Animals. Эксперименты выполнены на инбредных мышах-самцах линий BALB/c ($n = 207$) и C57Bl/6 ($n = 204$) с массой тела 20–24 г (филиал «Столбовая» ФГБНУ «Научный центр биомедицинских технологий Федерального медико-биологического агентства»). Животных содержали по 15 особей в клетке в условиях вивария ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий» (температура 21–23 °C, относительная влажность воздуха 40–60 %) при естественной освещённости и свободном доступе к воде и брикетированному корму в течение 10 суток до начала тестирования. Проведение экспериментов одобрено комиссией по биомедицинской этике ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий» (протокол № 10 от 10.06.24 г.).

Препараты / Medication. Цикло-L-пролилглицин синтезирован в лаборатории пептидных биорегуляторов ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», как описано ранее [23], т. пл. 204–207 °C, $[\alpha]_D^{20} -202^\circ$

(с 1, вода). ЦПГ в дозе 1, 2 и 4 мг/кг (внутрибрюшинно, в/б), морфина гидрохлорид (Минмедбиопроект объединение «Чимкентбиофарм», субстанция) в дозе 3 мг/кг (подкожно, п/к) и диклофенак 10 мг/кг (внутрижелудочно, в/ж) растворяли в воде для инъекций и вводили из расчёта 0,1 мл/10 г массы животного согласно схеме эксперимента. Для моделирования висцеральной боли использовали 0,75 % раствор уксусной кислоты. Контролем служили животные, получавшие воду для инъекций (ОАО «Дальхимфарм», ампулы по 5 мл) в эквивалентном объёме.

Тест «уксусные корчи» предназначен для выявления острой висцеральной и соматической боли с помощью введения 0,75 % раствора уксусной кислоты в объёме 10 мл/кг, в/б. Болевую реакцию «корчи» оценивали в течение 15 минут по количеству лордозов (специфических движений животных — чередующихся сокращений и расслаблений брюшных мышц с характерным выгибанием спины). Данные представлены в виде количества лордозов и относительных единиц — выраженности эффектов относительно контроля в процентах.

Для теста «уксусные корчи» использовали схему эксперимента:

- «Контроль, в/ж» — вода для инъекций, в/ж + через 60 минут 0,75 % уксусная кислота, в/б;
- «Диклофенак 10» — диклофенак в дозе 10 мг/кг, в/ж + через 60 минут 0,75 % уксусная кислота, в/б;
- «Контроль, в/б» — вода для инъекций, в/б + через 30 минут 0,75 % уксусная кислота, в/б;
- «ЦПГ 1» — ЦПГ в дозе 1 мг/кг, в/б + через 30 минут 0,75 % уксусная кислота, в/б;
- «ЦПГ 2» — ЦПГ в дозе 2 мг/кг, в/б + через 30 минут 0,75 % уксусная кислота, в/б;
- «ЦПГ 4» — ЦПГ в дозе 4 мг/кг, в/б + через 30 минут 0,75 % уксусная кислота, в/б.

Тест «горячая пластина» используется для оценки реакции мелких лабораторных животных при термическом раздражении ноцицепторов. С помощью анальгезиметра «Ugo Basile» (Италия) регистрировали латентное время реакции (лизание, отдергивание лапы или прыжок). До начала опыта отбирали животных на основе базовой реактивности в условиях экспериментальной модели, исключая мышей, остававшихся на нагретой до $55 \pm 0,5$ °C пластине дольше 16 секунд (для BALB/c) и 10 секунд (для C57Bl/6). Латентный период в 30 с (максимальное время экспозиции) расценивали как 100 % анальгезию. Фиксировали время появления реакции у мышей через 30, 60, 90 и 120 мин после введения изучаемых препаратов. Для выявления морфин-индуцированной анальгезии использовали схему:

- «Контроль» — вода для инъекций + через 30 минут вода для инъекций;
- «Морфин» — вода для инъекций + через 30 минут раствор морфина;
- «ЦПГ» — ЦПГ 2 или 4 мг/кг + через 30 минут вода для инъекций;

— «ЦПГ + Морфин» — ЦПГ 2 или 4 мг/кг + через 30 минут раствор морфина.

Полученные результаты представлены в виде максимально возможного эффекта (МВЭ) в процентах. МВЭ, %, равен разнице между латентным периодом реакции после введения препарата (Т опытный, с) и фоновым латентным периодом реакции (Т фоновый, с) делёной на максимальное время экспозиции (30 с) минус фоновый латентный период реакции (Т фоновый, с) и умноженное на 100 %:

$$\text{МВЭ, \%} = (\text{Т опытный, с} - \text{Т фоновый, с}) / (30 \text{ с} - \text{Т фоновый, с}) \times 100 \%$$

Выраженность МВЭ относительно контроля (%) рассчитывали по формуле:

$$\text{Выраженность МВЭ относительно контроля, \%} = (\text{Опытное значение (МВЭ, \% + 100)}) / (\text{Среднее значение контроля (МВЭ, \% + 100)}) \times 100 \%,$$

где 100 — коэффициент нормализации данных.

Статистический анализ / Statistical analysis проводили при помощи t-критерия Стьюдента и анализа ANOVA с последующим применением критерия Дункана. Критический уровень значимости $\alpha = 0,05$. Данные представлены в виде М — средних значений и SEM — ошибки среднего значения ($M \pm \text{SEM}$).

Результаты / Results

На первом этапе исследования показаны межлинейные различия между мышами инбредных линий BALB/c и C57Bl/6 (рис. 1А) в тесте «уксусные корчи», поскольку количество лордозов при химическом раздражении у мышей BALB/c оказалось ниже ($13,2 \pm 1,1$), чем у мышей C57Bl/6 ($17, 7 \pm 1,3$), что согласуется с данными литературы [7]. ЦПГ в дозах 1, 2 и 4 мг/кг статистически значимо снижал количество корчей у мышей BALB/c и C57Bl/6 (рис. 1Б), при этом действие ЦПГ в спектре изученных доз было сопоставимо с эффектом диклофенака в дозе 10 мг/кг (рис. 1Б).

Также зарегистрированы базовые межлинейные различия в латентном периоде реакции у мышей BALB/c ($13,3 \pm 0,5$) и C57Bl/6 ($8,0 \pm 0,2$) в тесте «горячая пластина» (рис. 2А), что также не противоречит данным литературы о более низком пороге ноцицептивной реакции у мышей C57Bl/6 [7]. Из-за повышенных порогов болевой реакции на термическое раздражение при первом предъявлении нагретой пластины (фоновые значения) у мышей BALB/c существенно изменился расчётный показатель МВЭ (%), что отразилось на динамике изменения реакции при повторных предъявлениях теплового раздражителя (рис. 2Б).

В тесте «горячая пластина» установлен эффект ЦПГ в дозе 2 мг/кг на протяжении всего времени наблюдения (с 30 по 120 минуту) как у мышей BALB/c, так и у C57Bl/6 (рис. 3А). Эффект ЦПГ в дозе 4 мг/кг

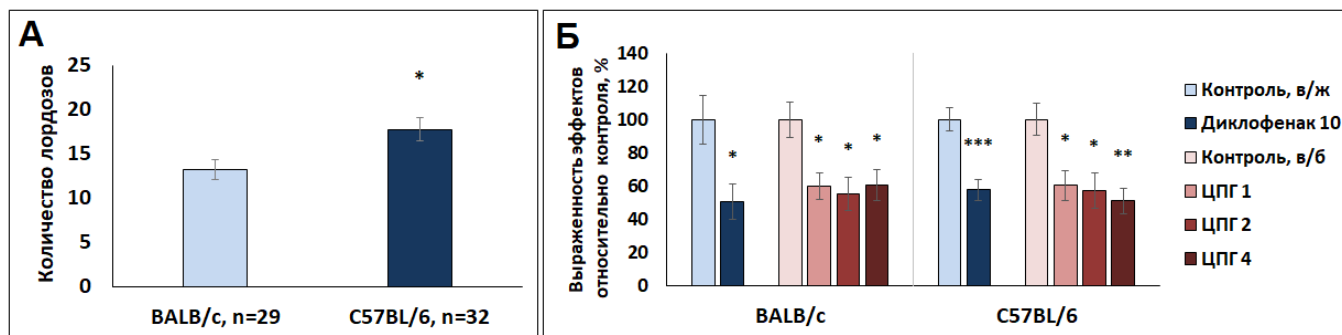


Рис. 1. Межлинейные различия реакции на химическое раздражение (количество лордозов) (А) и эффекты ЦПГ в дозах 1, 2 и 4 мг/кг (Б) в тесте «Укусные корчи» у инбредных мышей BALB/c и C57BL/6. М±SEM

Fig. 1. Strain differences in the response to chemical irritation (number of writhings) (A) and the effects of CPG at doses of 1, 2 and 4 mg/kg (B) in «writhing test» in inbred BALB/c and C57BL/6 mice. M±SEM

Примечания: А. * — $p < 0,05$ — статистически значимо по отношению к группе «BALB/c», согласно критерию Стьюдента. Б. По оси ординат — выраженность эффектов относительно соответствующего контроля, %; * — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$; *** — $p < 0,001$ — статистически значимо по отношению к соответствующему контролю, согласно критерию Дункана. Число животных в группах $n = 10-20$.

Notes: А. * — $p < 0.05$ — statistically significant in relation to the BALB/c group according to Student's t-test. B. The ordinate axis shows the severity of effects relative to the corresponding control, %; * — $p < 0.05$; ** — $p < 0.01$; *** — $p < 0.001$ — statistically significant in relation to the corresponding control according to Duncan's test. The number of animals in groups $n = 10-20$.

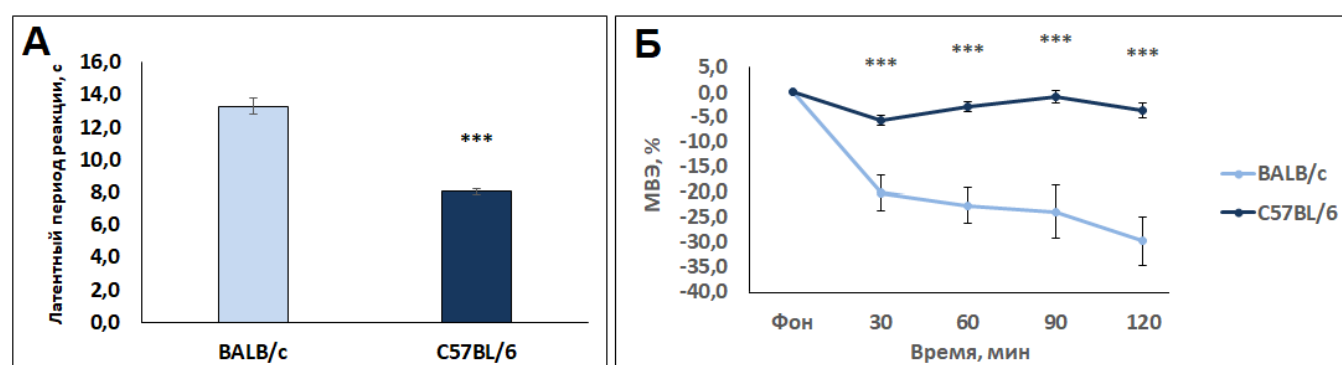


Рис. 2. Межлинейные различия латентного периода при термическом раздражении ноцицепторов при первой посадке в установку (А) и динамики изменения реакции (Б) у инбредных мышей BALB/c и C57BL/6 в тесте «горячая пластина». М±SEM

Fig. 2. Strain differences in the latent period during thermal stimulation of nociceptors during the first landing in the setup (A) and the dynamics of response changes (B) in inbred BALB/c and C57BL/6 mice in the «hot plate» test. M±SEM

Примечания: А. По оси ординат — латентный период реакции (фоновые значения) в секундах; *** — $p < 0,001$ — статистически значимо по отношению к группе «BALB/c», согласно критерию Стьюдента. Б. По оси абсцисс — время развития эффекта (мин); по оси ординат — максимально возможный эффект (МВЭ), %; *** — $p < 0,001$ — статистически значимо по отношению к группе «BALB/c», согласно критерию Стьюдента; число животных в группах $n = 30-33$.

Notes: А. The ordinate axis shows the latent period of the response (background values) in seconds; *** — $p < 0.001$ — statistically significant in relation to the BALB/c group according to Student's t-test. B. The abscissa axis shows the time of effect development (min); the ordinate axis shows the maximum possible effect (MPE), %; *** — $p < 0.001$ — statistically significant in relation to the BALB/c group according to Student's t-test; the number of animals in groups $n = 30-33$.

регистрировали через 30 мин после введения у BALB/c, а у C57BL/6 в дозах 1 и 4 мг/кг — через 120 мин после введения (рис. 3А). При межлинейном сравнении максимально возможных эффектов ЦПГ относительно соответствующего контроля (%) установлено, что выраженность эффекта ЦПГ в максимально эффективной дозе 2 мг/кг существенно выше у BALB/c по сравнению с C57BL/6 на 30-, 60- и 120-й минуте наблюдений (рис. 3Б).

На следующем этапе исследования при изучении влияния ЦПГ (2 и 4 мг/кг, в/б) на вызываемую морфином анальгезию в тесте «горячая пластина» установлено, что ЦПГ в эффективной дозе 2 мг/кг препятствовал реализации действия морфина у мышей BALB/c и C57BL/6 на 30-, 60- и 90-й минуты наблюдения (рис. 4А), однако с увеличением дозы до 4 мг/кг ЦПГ не влиял на обезболивающее действие морфина (рис. 4Б). Следует подчеркнуть, что влияние ЦПГ на

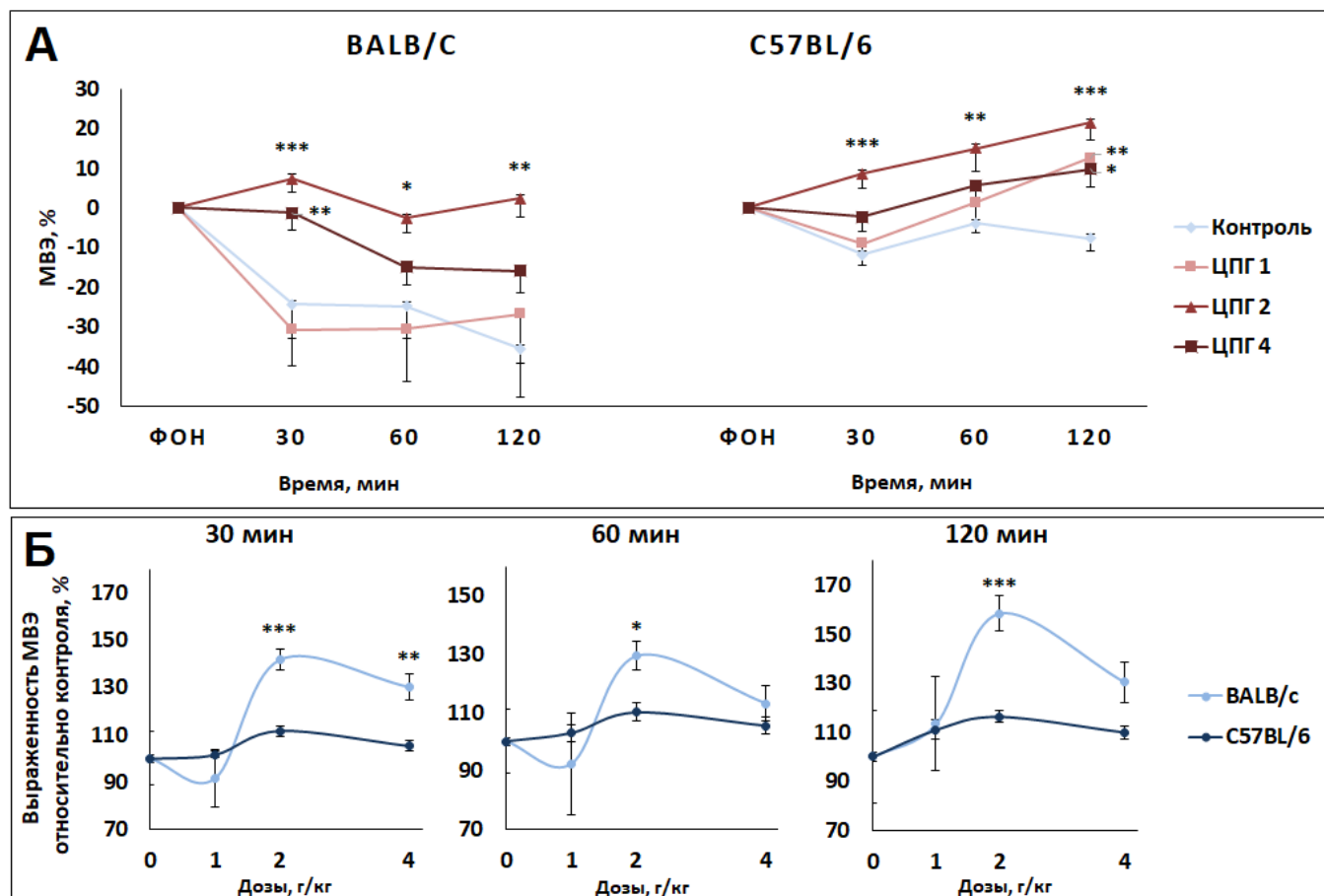


Рис. 3. Влияние ЦПГ в дозах 1, 2 и 4 мг/кг на ноцицептивную реакцию инбредных мышей BALB/c и C57Bl/6 (А) и межлинейные различия по степени выраженности эффекта (Б) в тесте «горячая пластина». М±SEM

Fig. 3. Effect of CPG at doses of 1, 2 and 4 mg/kg on the nociceptive response of inbred BALB/c and C57Bl/6 mice (A) and strain differences in the degree of effect expression (B) in the «hot plate» test. M±SEM

Примечания: А. По оси абсцисс — время развития эффекта (мин); по оси ординат — максимально возможный эффект (МВЭ), %; * — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$, *** — $p < 0,001$ — статистически значимо по отношению к соответствующей точке «Контроля», согласно критерию Дункана. Б. По оси абсцисс — дозы (г/кг); по оси ординат — выраженность максимально возможного эффекта (МВЭ) относительно соответствующего контроля, %; * — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$; *** — $p < 0,001$ — статистически значимо по отношению к «C57Bl/6», согласно критерию t-Стьюдента. Число животных в группах $n = 10-23$.

Notes: A. Abscissa axis — effect development time (min); ordinate axis — maximum possible effect (MPE), %; * — $p < 0.05$; ** — $p < 0.01$; *** — $p < 0.001$ — statistically significant in relation to the corresponding point of the "Control" according to the Duncan criterion. B. Abscissa axis — doses (g/kg); ordinate axis — expression of the maximum possible effect (MPE) relative to the corresponding control, %; * — $p < 0.05$; ** — $p < 0.01$; *** — $p < 0.001$ — statistically significant in relation to "C57Bl/6" according to Student's t-test. Number of animals in groups $n = 10-23$.

ослабление морфин-индуцированной анальгезии у BALB/c и C57Bl/6 не зависело от генотипа мышей.

Обсуждение / Discussion

Учитывая многообразие нейрохимических механизмов, участвующих в проявлении висцеральной и соматической боли, исследования в области поиска новых средств для купирования боли и комбинированной терапии остаются актуальными. Инбредные мыши C57Bl/6J и BALB/c наиболее часто используются в биомедицинских исследованиях [24, 25], поскольку генетические факторы, наряду с воздействием

факторов окружающей среды, способствуют значительным индивидуальным различиям в поведении и, как следствие, различным реакциям на болевое и фармакологическое воздействие [26].

Висцеральная боль представляет собой один из наиболее распространенных видов боли в клинической практике, для которой характерна выраженная гипералгезия [27]. Внутривисцеральное введение уксусной кислоты можно рассматривать в качестве модели тонической сомато-висцеральной боли, поскольку вызываемые абдоминальные сокращения представляют собой смешанную модель, подобную острому перитониту, который активизирует висцеральные и

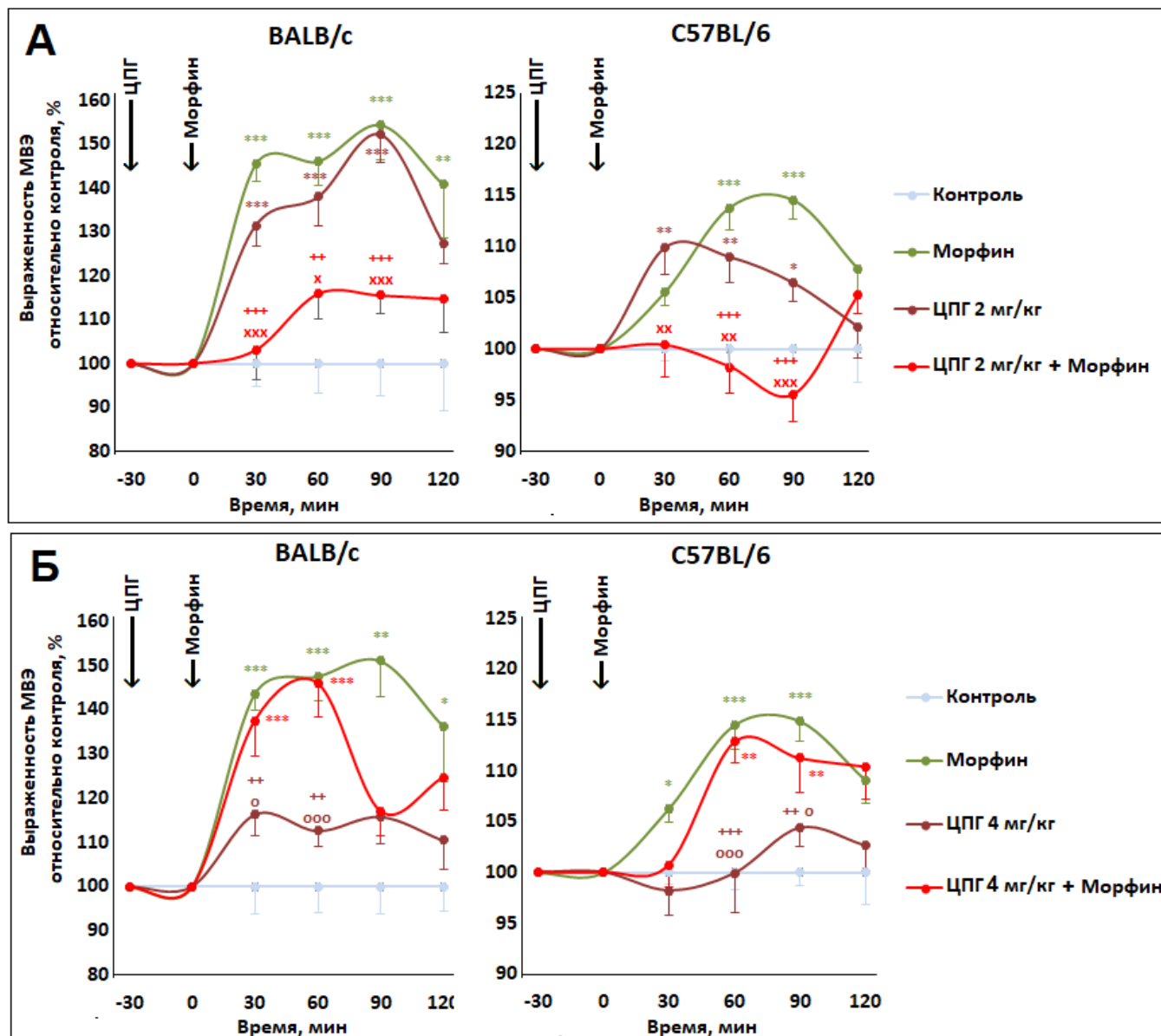


Рис. 4. Влияние ЦПГ в дозах 2 мг/кг (А) и 4 мг/кг (Б) на морфин-индуцированную анальгезию при термическом раздражении ноцицепторов у инбредных мышей BALB/c и C57Bl/6 в тесте «горячая пластина». $M \pm SEM$

Fig. 4. Effect of CPG at doses of 2 mg/kg (A) and 4 mg/kg (B) on morphine-induced analgesia during thermal stimulation of nociceptors in inbred BALB/c and C57Bl/6 mice in the «hot plate» test. $M \pm SEM$

Примечания: По оси абсцисс — время развития эффекта (мин); по оси ординат — выраженность максимально возможного эффекта (МВЭ) относительно контроля, %; * — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$; *** — $p < 0,001$ — статистически значимо по отношению к соответствующей точке «Контроля»; ++ — $p < 0,01$; +++ — $p < 0,001$ — статистически значимо по отношению к соответствующей точке «Морфина»; x — $p < 0,05$; xx — $p < 0,01$; xxx — $p < 0,001$ — статистически значимо по отношению к соответствующей точке «ЦПГ»; o — $p < 0,05$; ooo — $p < 0,001$ — статистически значимо по отношению к соответствующей точке «ЦПГ + Морфин» согласно критерию Дункана; число животных в группах $n = 10$.

Notes: The abscissa axis shows the time of effect development (min); the ordinate axis shows the expression of the maximum possible effect (MPE) relative to the control, %; * — $p < 0.05$; ** — $p < 0.01$; *** — $p < 0.001$ — statistically significant in relation to the corresponding point of "Control"; ++ — $p < 0.01$; +++ — $p < 0.001$ — statistically significant in relation to the corresponding point of "Morphine"; x — $p < 0.05$; xx — $p < 0.01$; xxx — $p < 0.001$ — statistically significant in relation to the corresponding point of "CPG"; o — $p < 0.05$; ooo — $p < 0.001$ — statistically significant in relation to the corresponding point of "CPG + Morphine" according to Duncan's criterion; the number of animals in groups $n = 10$.

соматические ноцицепторы брюшины [28, 29] и способствует развитию воспаления в мышечной стенке. Реакция «уксусные корчи» широко используется для оценки и сравнения эффективности новых биологически активных веществ и лекарственных средств с анальгетическим действием [28, 30, 31] и считается простой и валидной моделью клинически значимой боли, позволяющей предсказать реакцию человека. Полученные результаты подтвердили опубликованные ранее данные о способности ЦПГ ослаблять ноцицептивное поведение у мышей на модели тонической висцеральной боли [22]. В работе *Ferro JN et al.* антиноцицептивный эффект ЦПГ в тесте «уксусные корчи» регистрировали у аутбредных мышей Swiss в течение 6 ч после введения [22]. Межлинейных различий в проявлении анальгетического действия ЦПГ, сопоставимого с эффективностью диклофенака натрия, зарегистрировано не было. Учитывая тот факт, что ЦПГ при системном введении значительно подавлял нейрогенную и воспалительные фазы боли, вызванной формалином [22], нельзя исключить потенциальную возможность применения *cyclo-Gly-Pro* и/или его аналогов для ослабления ноцицепции и повреждения, вызванного воспалением.

В настоящей работе впервые показано, что при термической стимуляции анальгетический эффект ЦПГ на супраспинальном уровне (тест «горячая пластина») в зависимости от дозы манере более ярко проявлялся у «стресс-неустойчивых» мышей BALB/c. В исследованиях *Васильевой Е.В. и соавт.* особенность реализации психотропных эффектов ЦПГ у мышей BALB/c и C57Bl/6 показана в зависимости от продолжительности введения циклического дипептида [32]. Более высокая чувствительность мышей BALB/c к антидепрессивному эффекту ЦПГ в дозе 1 мг/кг развивалась через 2 недели, тогда как у мышей C57Bl/6 формирование антидепрессивноподобного поведения отмечали лишь к концу 4-й недели [32]. Анализ поведенческих реакций впервые позволил выявить разную чувствительность инбредных мышей BALB/c и C57Bl/6 к антиноцицептивному действию ЦПГ при однократном введении.

Исследования комбинаций морфина с другими анальгетическими средствами направлены на то, чтобы обеспечить возможность использования более низких доз опиоидов, которые позволили бы преодолеть нежелательные побочные эффекты [33]. При комбинированной терапии каждый компонент может оказывать независимое действие, эффекты которого являются взаимодополняющими, или компоненты могут взаимодействовать, оказывая более сильный или более слабый обезболивающий эффект (синергизм или антагонизм, соответственно) [33]. При оценке влияния ЦПГ на морфин-индуцированную анальгезию при термической стимуляции получен неожиданный результат, свидетельствующий о «налоксоно-подобной» активности ЦПГ, значительно

ослабляющего вызываемую морфином анальгезию у мышей BALB/c и C57Bl/6 вне зависимости от генотипа на супраспинальном уровне. Особенно интригующими выглядят полученные результаты взаимодействия ЦПГ с морфином на фоне опубликованных данных, согласно которым увеличение латентного периода реакции в тесте «горячая пластина», обусловленное действием ЦПГ, блокировалось антагонистом опиоидных рецепторов налоксоном [22].

С другой стороны, экспериментально доказано, что ЦПГ оказывал положительное модулирующее действие на глутаматные α -амино-3-гидрокси-5-метил-4-изоксазолпропионовой кислоты (AMPA-рецепторы) [34]. По данным радиолигандного анализа *in vitro* ЦПГ не влиял на специфическое связывание меченых лигандов серотониновых 5-HT_{2A}-, NMDA-, метаботропных глутаматных mGluR-, ГАМКА- и ГАМКВ-рецепторов в мозге мышей BALB/c [21], что не исключает вовлечённость 4 AMPA-рецепторов при формировании антиноцицептивной реакции под действием ЦПГ.

Ампакины, которые связываются с аллостерическим участком AMPA-рецепторов, потенцируют функционирование уже активированных AMPA-рецепторов, что позволяет им как положительным модуляторам рецепторов усиливать эндогенные функции AMPA-рецепторов в определённых областях мозга. Неоднократно описаны способности ампакинов ослаблять болевую реакцию [35–37]. *Sun Y et al.* установили, что при введении в *префронтальную кору* ампакин CX546 оказывал синергическое действие на морфин-индуцированную анальгезию у крыс [38], что позволило авторам предположить взаимодополняющий и аддитивный анальгетический эффект при совместном использовании ампакинов и опиоидов. Другое соединение LCX001 также оказывало положительное модулирующее воздействие на функцию, опосредованную AMPA-рецепторами, при этом LCX001 с анальгетической активностью *per se* не оказывал влияния на обезболивающий эффект морфина (2,5 мг/кг, п/к) в тесте «горячая пластина», значительно увеличивал экспрессию субъединиц GluA2(R) и сдерживал вызванную опиоидами аномальную внутриклеточную нагрузку Ca^{2+} [39].

Ограничение исследования / Limitation of the study

Работа выполнена только на половозрелых мышаксамцах одного возраста 3 мес. Необходимо проведение дополнительного изучения антиноцицептивной активности ЦПГ с учётом половых и возрастных различий, а также при иных режимах термической стимуляции в тесте «горячая пластина». Взаимодействие ЦПГ и морфина показано только при предварительном введении циклического дипептида (одна схема введения).

Заключение / Conclusion

В целом, анализ данных литературы и собственные исследования указывает на то, что передача сигналов АМРА-рецептором влияет на формирование проноцицептивных и/или антиноцицептивных реакций. Ампакины, усиливающие передачу сигналов глутамата через АМРА-рецепторы, являются эффективными анальгетиками, нейроанатомический субстрат действия которых располагается в головном мозге

[35, 38]. Установленная зависимость собственного антиноцицептивного эффекта ЦПГ на супраспинальном уровне от генотипа имеет важное значение в контексте биомедицинских исследований выявления боли и обеспечения контроля над ней с помощью фармакологических корректоров у лабораторных животных. Выявленный феномен влияния ЦПГ на морфин-индуцированную анальгезию вне зависимости от генотипа требует дополнительных исследований.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Участие авторов

Надорова А. В. — выполнение экспериментальной работы, анализ и интерпретация результатов, написание текста; *Колясникова К. Н.* — выполнение экспериментальной работы, анализ и интерпретация результатов; *Чернякова И. В.* — выполнение экспериментальной работы, анализ и интерпретация результатов; *Колик Л. Г.* — постановка задачи, написание текста, редактирование, финальное утверждение.

ADDITIONAL INFORMATION

Conflict of interests

The authors declare no conflict of interest.

Authors' participation

Nadorova AV — performing experimental work, analyzing and interpreting results, writing text; *Koliasnikova KN* — performing experimental work, analyzing and interpreting results; *Chernyakova IV* — performing experimental work, analyzing and interpreting results; *Kolik LG* — problem statement, writing text, editing, final approval.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ / ABOUT THE AUTHORS

Надорова Анна Владимировна

Автор, ответственный за переписку

н. с. лаборатории лекарственной токсикологии
ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных
биомедицинских и фармацевтических
технологий», Москва, Российская Федерация
e-mail: nadorova_av@academpharm.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-0463-2190>

Anna V. Nadorova

Corresponding author

Researcher at the Laboratory of Medicinal Toxicology Federal research center for innovator and emerging biomedical and pharmaceutical technologies, Moscow, Russian Federation
e-mail: nadorova_av@academpharm.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-0463-2190>

Колясникова Ксения Николаевна

к. б. н., с. н. с. лаборатории пептидных
биорегуляторов отдела химии лекарственных
средств ФГБНУ «ФИЦ оригинальных
и перспективных биомедицинских и
фармацевтических технологий», Москва,
Российская Федерация
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-6797-692X>
РИНЦ SPIN-код: 5682-2035

Ksenia N. Koliasnikova

PhD, Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher at the
Laboratory of Peptide Bioregulators of the Department of Drug Chemistry Federal research center for innovator and emerging biomedical and pharmaceutical technologies, Moscow, Russian Federation
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-6797-692X>
RSCI SPIN code: 5682-2035

Чернякова Ирина Владимировна

к. м. н, в. н. с. лаборатории лекарственной токсикологии ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва, Российская Федерация

Колик Лариса Геннадьевна

д. б. н., профессор РАН, руководитель лаборатории лекарственной токсикологии ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва, Российская Федерация
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-9847-8058>
РИНЦ SPIN-код: 9126-6922

Irina V. Chernyakova

PhD, Cand. Sci. (Med.), Leading Researcher at the Laboratory of Medicinal Toxicology Federal research center for innovator and emerging biomedical and pharmaceutical technologies, Moscow, Russian Federation

Larisa G. Kolik

PhD, Dr. Sci. (Biology), Professor of the Russian Academy of Sciences, Head of laboratory of medicinal toxicology Federal research center for innovator and emerging biomedical and pharmaceutical technologies, Moscow, Russian Federation
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-9847-8058>
RSCI SPIN code: 9126-6922

Список литературы / References

1. Reimann F, Cox JJ, Belfer I, et al. Pain perception is altered by a nucleotide polymorphism in SCN9A. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010 Mar 16; 107(11):5148-53. doi: 10.1073/pnas.0913181107.
2. Holliday KL, Nicholl BI, Macfarlane GJ, et al. Genetic variation in the hypothalamic-pituitary-adrenal stress axis influences susceptibility to musculoskeletal pain: results from the EPIFUND study. *Ann Rheum Dis*. 2010 Mar;69(3):556-60. doi: 10.1136/ard.2009.116137.
3. Kim H, Ramsay E, Lee H, et al. Genome-wide association study of acute post-surgical pain in humans. *Pharmacogenomics*. 2009 Feb;10(2):171-9. doi: 10.2217/14622416.10.2.171.
4. Johnston KJA, Adams MJ, Nicholl BI, et al. Genome-wide association study of multisite chronic pain in UK Biobank. *PLoS Genet*. 2019 Jun 13; 15(6):e1008164. doi: 10.1371/journal.pgen.1008164.
5. Willis WD Jr. The somatosensory system, with emphasis on structures important for pain. *Brain Res Rev*. 2007 Oct;55(2):297-313. doi: 10.1016/j.brainresrev.2007.05.010.
6. Basbaum AI, Bautista DM, Scherrer G, Julius D. Cellular and molecular mechanisms of pain. *Cell*. 2009 Oct 16;139(2):267-84. doi: 10.1016/j.cell.2009.09.028.
7. Mogil JS, Wilson SG, Bon K, et al. Heritability of nociception I: responses of 11 inbred mouse strains on 12 measures of nociception. *Pain*. 1999 Mar;80(1-2):67-82. doi: 10.1016/s0304-3959(98)00197-3.
8. Smith JC. A Review of Strain and Sex Differences in Response to Pain and Analgesia in Mice. *Comp Med*. 2019 Dec 1;69(6):490-500. doi: 10.30802/AALAS-CM-19-000066.
9. Mogil JS, Wilson SG, Bon K, et al. Heritability of nociception II. 'Types' of nociception revealed by genetic correlation analysis. *Pain*. 1999 Mar;80(1-2):83-93. doi: 10.1016/s0304-3959(98)00196-1.
10. Lariviere WR, Wilson SG, Laughlin TM, et al. Heritability of nociception. III. Genetic relationships among commonly used assays of nociception and hypersensitivity. *Pain*. 2002 May;97(1-2):75-86. doi: 10.1016/s0304-3959(01)00492-4.
11. Wilson SG, Smith SB, Chesler EJ, et al. The heritability of antinociception: common pharmacogenetic mediation of five neurochemically distinct analgesics. *J Pharmacol Exp Ther*. 2003 Feb;304(2):547-59. doi: 10.1124/jpet.102.041889.
12. Young EE, Costigan M, Herbert TA, Lariviere WR. Heritability of nociception IV: neuropathic pain assays are genetically distinct across methods of peripheral nerve injury. *Pain*. 2014 May;155(5):868-880. doi: 10.1016/j.pain.2013.09.018.
13. Mogil JS, Kest B, Sadowski B, Belknap JK. Differential genetic mediation of sensitivity to morphine in genetic models of opiate antinociception: influence of nociceptive assay. *J Pharmacol Exp Ther*. 1996 Feb;276(2):532-44.
14. Mogil JS. The genetic mediation of individual differences in sensitivity to pain and its inhibition. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1999 Jul 6;96(14):7744-51. doi: 10.1073/pnas.96.14.7744.
15. Althaus A, Arránz Becker O, Neugebauer E. Distinguishing between pain intensity and pain resolution: using acute post-surgical pain trajectories to predict chronic post-surgical pain. *Eur J Pain*. 2014 Apr;18(4):513-21. doi: 10.1002/j.1532-2149.2013.00385.x.
16. Blichfeldt-Eckhardt MR, Ording H, Andersen C, et al. Early visceral pain predicts chronic pain after laparoscopic cholecystectomy. *Pain*. 2014 Nov;155(11):2400-7. doi: 10.1016/j.pain.2014.09.019.
17. Гудашева Т.А., Василевич Н.И., Золотов Н.Н., и др. О механизме ноотропного действия топологических аналогов пирасетама на основе пролина. *Химико-фармацевтический журнал*. 1991;25(6):12-16. [Gudasheva TA, Vasilevich NI, Zolotov NN, et al. O mekhanizme nootropnogo deistviya topologicheskikh analogov pirasetama na osnove prolina. *Khimiko-farmatsevticheskii zhurnal*. 1991;25(6):12-16. (In Russ.)].
18. Gudasheva TA, Boyko SS, Akparov VKh, et al. Identification of a novel endogenous memory facilitating cyclic dipeptide cyclo-prolylglycine in rat brain. *FEBS Lett*. 1996 Aug 5;391(1-2):149-52. doi: 10.1016/0014-5793(96)00722-3.
19. Seredenin SB, Gudasheva TA, Boiko SS, et al. Endogenous dipeptide cycloprolylglycine shows selective anxiolytic activity in animals with manifest fear reaction. *Bull Exp Biol Med*. 2002 Apr;133(4):360-2. doi: 10.1023/a:1016293904149.
20. Жердев В.П., Бойко С.С., Колясникова К.Н. Взаимосвязь между содержанием потенциального психофармакологического средства цикло-Л-пролилглицина в мозге экспериментальных животных и его антигипоксическим эффектом. *Фармакокинетика и фармакодинамика*. 2020;(1):25-29. [Zherdev VP, Boyko SS, Kolyasnikova KN. The relationship between the content of the potential psychopharmacological agent cyclo-L-prolylglycine in the brain of experimental animals and its antihypoxic effect. *Farmakokinetika i farmakodinamika*. 2020;(1):25-29. (In Russ.)]. doi: 10.37489/2587-7836-2020-1-25-29.
21. Abdullina AA, Vasilyeva EV, Kondrakhin EA, Kovalev GI. The involvement of serotonin, glutamate, and GABA receptors in the manifestation of antidepressant-like effect of cycloprolylglycine. *Neurochemical Journal*. 2019;13(3):249-55. doi: 10.1134/S1819712419030024.
22. Ferro JN, de Aquino FL, de Brito RG, et al. Cyclo-Gly-Pro, a cyclic dipeptide, attenuates nociceptive behaviour and inflammatory response in mice. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2015 Dec;42(12):1287-95. doi: 10.1111/1440-1681.12480.
23. Колясникова К.Н., Голубятникова А.К., Ребеко А.Г., и др. Синтез цикло-Л-пролилглицина и изучение его антипаркинсонической активности. *Фармакокинетика и фармакодинамика*. 2019;3:19-26. [Kolyasnikova KN, Golubyatnikova AK, Rebebo AG, et al. Synthesis of cyclo-L-prolylglycine and study of its anti-parkinsonian activity. *Farmakokinetika i farmakodinamika*. 2019;3:19-26. (In Russ.)]. doi: 10.24411/2588-0519-2019-10051.
24. Shoji H, Miyakawa T. Age-related behavioral changes from young to old age in male mice of a C57BL/6J strain maintained under a genetic stability program. *Neuropsychopharmacol Rep*. 2019 Jun;39(2):100-118. doi: 10.1002/npr.212052.

25. Beierle JA, Yao EJ, Goldstein SI, et al. Genetic basis of thermal nociceptive sensitivity and brain weight in a BALB/c reduced complexity cross. *Mol Pain*. 2022 Jan-Dec;18:17448069221079540. doi: 10.1177/17448069221079540.
26. Wahlsten D, Metten P, Phillips TJ, et al. Different data from different labs: lessons from studies of gene-environment interaction. *J Neurobiol*. 2003 Jan;54(1):283-311. doi: 10.1002/neu.10173.
27. Sengupta JN. Visceral pain: the neurophysiological mechanism. *Handb Exp Pharmacol*. 2009;(194):31-74. doi: 10.1007/978-3-540-79090-7_2.
28. Le Bars D, Gozariu M, Cadden SW. Animal models of nociception. *Pharmacol Rev*. 2001 Dec;53(4):597-652.
29. Stepanovic-Petrovic RM, Tomic MA, Vuckovic SM, et al. The antinociceptive effects of anticonvulsants in a mouse visceral pain model. *Anesth Analg*. 2008 Jun;106(6):1897-903. doi: 10.1213/ane.0b013e318172b993.
30. Satyanarayana PS, Jain NK, Singh A, Kulkarni SK. Isobolographic analysis of interaction between cyclooxygenase inhibitors and tramadol in acetic acid-induced writhing in mice. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2004 Jul;28(4):641-9. doi: 10.1016/j.pnpbp.2004.01.015.
31. Shamsi Meymandi M, Keyhanfar F. Assessment of the antinociceptive effects of pregabalin alone or in combination with morphine during acetic acid-induced writhing in mice. *Pharmacol Biochem Behav*. 2013 Sep;110:249-54. doi: 10.1016/j.pbb.2013.07.021.
32. Васильева Е.В., Абдуллина А.А., Салимов Р.М. и др. Динамика психотропных эффектов циклопролилглицина у мышей BALB/c и C57Bl/6 в зависимости от продолжительности его введения. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2021;84(1):3-7. [Vasil'eva EV, Abdullina AA, Salimov RM, et al. Dynamics of cyclopropylglycine psychotropic effects in balb/c and C57Bl/6 mice depending on treatment duration. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2021;84(1):3-7. (In Russ.)]. doi: 10.30906/0869-2092-2021-84-1-3-7.
33. Raffa RB, Pergolizzi Jr JV, Tallarida RJ. The determination and application of fixed-dose analgesic combinations for treating multimodal pain. *J Pain*. 2010 Aug;11(8):701-9. doi: 10.1016/j.jpain.2009.12.010.
34. Gudasheva TA, Grigoriev VV, Koliashnikova KN, et al. Neuropeptide cyclopropylglycine is an endogenous positive modulator of AMPA receptors. *Dokl Biochem Biophys*. 2016 Nov;471(1):387-389. doi: 10.1134/S160767291606003X.
35. Su C, Lin HY, Yang R, et al. AMPAkinase Target the Nucleus Accumbens to Relieve Postoperative Pain. *Anesthesiology*. 2016 Nov;125(5):1030-1043. doi: 10.1097/ALN.0000000000001336.
36. Le AM, Lee M, Su C, Zou A, Wang J. AMPAkinase have novel analgesic properties in rat models of persistent neuropathic and inflammatory pain. *Anesthesiology*. 2014;121:1080-90. doi: 10.1097/ALN.0000000000000351.
37. Zeng F, Zhang Q, Liu Y, et al. AMPAkinase potentiate the corticostriatal pathway to reduce acute and chronic pain. *Mol Brain*. 2021 Mar 2;14(1):45. doi: 10.1186/s13041-021-00757-y.
38. Sun Y, Liu K, Martinez E, et al. AMPAkinase and morphine provide complementary analgesia. *Behav Brain Res*. 2017 Sep 15;334:1-5. doi: 10.1016/j.bbr.2017.07.020.
39. Dai W, Gao X, Xiao D, et al. The Impact and Mechanism of a Novel Allosteric AMPA Receptor Modulator LCX001 on Protection Against Respiratory Depression in Rodents. *Front Pharmacol*. 2019 Feb 19;10:105. doi: 10.3389/fphar.2019.00105.