

УДК 597.5.591.5

ОПИОИДНАЯ МОДУЛЯЦИЯ БОЛЕВЫХ ПОРОГОВ У РЫБ

© 2000 г. Л. С. Червова, Д. Н. Лапшин

Представлено академиком П.В. Симоновым 23.02.2000 г.

Поступило 14.03.2000 г.

Боль - это сигнальная и защитная реакция, которая выработалась в процессе эволюции как приспособительное свойство, направленное на повышение выживаемости особи в окружающей среде. Болевые ощущения позволяют идентифицировать раздражители, которые ведут к повреждению или разрушению тканей организма и непосредственно угрожают его жизнедеятельности. Кроме системы болевой (ноцицептивной) чувствительности у человека и наземных позвоночных показано наличие антиболевой (антиноцицептивной) морфофункциональной системы, поддерживающей и регулирующей порог болевой чувствительности на необходимом функциональном уровне. Эта система представлена преимущественно эндогенными опиоидными пептидами и опиоидными рецепторами, относящимися к трем основным классам μ , δ и κ [1].

Ранее нами было обнаружено, что у рыб, как и у высших позвоночных, имеется система болевой чувствительности, рецептивные поля которой локализуются по всей поверхности тела [2-4]. Однако проблема ноцицепции и антиноцицепции у рыб практически не исследовалась. Одной из основных причин этого было отсутствие адекватных методических приемов, позволяющих количественно измерять величину ноцицептивного стимула и ответной реакции на него.

Целью настоящей работы было изучение поведенческих (двигательных) ответов рыб на пороговые болевые раздражители и исследование влияния на эти ответы анальгетика центрального действия трамадола - агониста μ опиоидных рецепторов.

Опыты проводили на карпе *Cyprinus carpio* массой 50-100 г. Всего исследовано 42 особи. Для выполнения поставленной задачи была использована усовершенствованная методика, основное преимущество которой по сравнению с применяв-

шейся нами ранее [2-4] - это возможность измерять пороги болевой реакции, а также изменения этих порогов после введения вещества. Разработанная нами компьютеризированная оптико-механическая система позволяла регистрировать поведенческие реакции, а именно горизонтальные движения хвостового стебля рыб в ответ на пороговые ноцицептивные стимулы (рис. 1а).

Рыбу фиксировали (в области рта и грудных плавников) в камере с проточной водой. Стимулирующие электроды вводили в ткань лопасти хвостового плавника, что исключало непосредственную стимуляцию мышечных волокон. Ноцицептивными стимулами служили серии коротких 0.5 мс импульсов тока, амплитудой 0.5-2.0 мА, с частотой повторения 300/с, общей длительностью стимулирующей импульсации 0.7 с; временная структура стимула приведена на рис. 1б.

Ноцицептивную стимуляцию и регистрацию локомоторных ответов осуществляли под компьютерным контролем. Амплитуда и латентный период ответа визуализировались на экране монитора. Система позволяла измерять ноцицептивные пороги с точностью 10%; измерения в течение 1 ч до (фон) и 1.5-2 ч после введения раствора трамадола проводили с интервалом 5 мин. Растворы трамадола 10, 30, 50, 80, 100 нмоль/г массы тела вводили внутримышечно в объеме 1 мкл/г. Растворителем и контрольным раствором служил 0.9%-ный раствор хлористого натрия. В отдельной серии опытов (6 рыб) за 1 ч до эксперимента вводили раствор 100 нмоль/г налоксона, универсального антагониста опиоидных рецепторов. Величину анальгезии (A) рассчитывали как логарифм отношения ноцицептивных порогов (через каждые 5 мин) после введения трамадола к средней величине порога до введения вещества: $A = \lg T_i/T_f$. Полученные данные статистически обрабатывали по критериям Манна-Вилкоксона-Уитни.

Результаты исследований показали, что ноцицептивные пороги у отдельных особей в норме колебались в пределах 10% ($p < 0.01$), оставаясь стабильными в течение 1-2 и более часов. Введение растворов трамадола дозозависимо повышало пороги чувствительности к болевому раздра-

Московский государственный университет
им. М.В. Ломоносова

Институт проблем передачи информации
Российской Академии наук, Москва

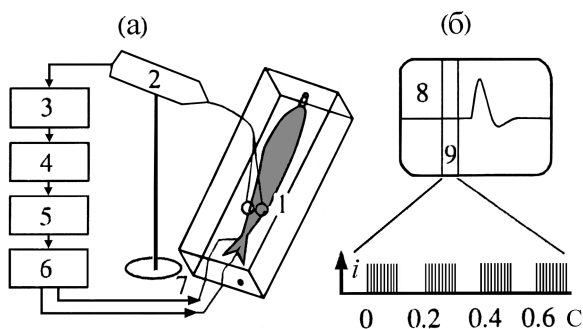


Рис. 1. а - схема электронной оптико-механической системы для измерения ноцицептивных порогов у рыб; б - на экране монитора пример реакции рыбы на болевой стимул. 1 - камера с проточной водой, 2 - сенсор, 3 - аналогово-цифровой преобразователь, 4 - компьютер, 5 - стимулятор, 6 - усилитель, 7 - раздражающие электроды, 8 - экран монитора, 9 - период раздражения (с), i - амплитуда раздражающего стимула (мА).

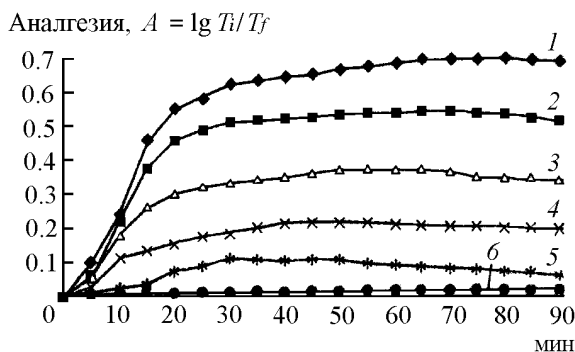


Рис. 2. Изменение пороговой чувствительности к ноцицептивным стимулам после введения растворов трамадола: 1-6 - 100, 80, 50, 30, 10 нмоль/г и 0.9% NaCl (контроль) соответственно. Все кривые достоверно отличаются от контроля ($p < 0.001$, < 0.001 , < 0.001 , < 0.01 , < 0.05 , соответственно 1-5). Абсцисса - время после введения раствора, ордината - величина аналгезии A .

жителю. Аналгетический эффект проявлялся через 5-15 мин в зависимости от дозы. При увеличении дозы скорость наступления аналгезии возрастала (рис. 2). Отдельные наблюдения показали, что общее время аналгезии могло составлять более 2 ч. На фоне предварительно введенного антагониста опиоидных рецепторов налоксона аналгетический эффект трамадола не проявлялся ($p < 0.05$). Инъекции контрольного раствора не изменяли характер ответов ($p < 0.01$). Отсутствие реакций на возрастающий болевой стимул не было следствием обездвиживания, так как подопытные рыбы, отпущенные в аквариум, демонстрировали нормальное плавание и обычное поведение.

Эти данные свидетельствуют о том, что у рыб, как и у высших позвоночных, агонисты μ опиоидных рецепторов оказывают длительное аналгетическое действие, что подтверждает существование у рыб антиноцицептивной системы, представленной, как и у наземных позвоночных, опиоидными рецепторами. Первоначально опиоидные рецепторы были обнаружены у млекопитающих. Было показано, что они опосредуют эффекты морфина и его производных (аналгезию, привыкание и др.), а также являются мишенями для эндогенных опиоидных пептидов: энкефалинов и эндорфинов [1].

Позднее опиоидные рецепторы были обнаружены и у низших позвоночных. У амфибий μ , δ и κ опиоиды опосредуют антиноцицепцию, как предполагается, через единственный тип опиоидного комплексного рецептора, названного унирецептором [5]. У костистых рыб *Catostomus commersoni* и *Danio rerio* недавно были изолированы комплементарные ДНК и клонированы кодируемые ими μ , δ (полностью) и κ (частично) опиоидные рецепторы (G-протеины), которые по своим аминокислотным последовательностям оказались очень сходными с μ , δ и κ опиоидными рецепторами млекопитающих [6, 7]. Основная функция μ опиоидных рецепторов у млекопитающих - опосредовать аналгетические эффекты. Наши данные показывают, что у рыб они выполняют ту же роль - повышают порог болевой чувствительности.

Таким образом, можно полагать, что опиоидная антиноцицептивная система возникла на более ранних этапах эволюции, чем это предполагалось ранее. Уже у костистых рыб она обладает такими же структурными и функциональными особенностями, которые свойственны современным млекопитающим.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Dhawan B.N., Cesselin F., Raghur R. et al. // *Pharmacol. Rev.* 1996. V. 48. № 4. P. 567-592.
2. Червова Л.С., Каменский А.А., Малюкина Г.А. и др. // *Журн. эволюцион. биохимии и физиологии.* 1992. Т. 28. № 1. С. 45-48.
3. Червова Л.С., Лапшин Д.Н., Каменский А.А. // *ДАН.* 1994. Т. 338. № 6. С. 836-837.
4. Червова Л.С. // *Вопр. ихтиологии.* 1997. Т. 37. № 1. С. 106-111.
5. Stevens C.W., Newman L.C. // *Life Sci.* 1999. V. 64. №10. P. 125-130.
6. Darlison M.G., Greten F.R., Harvey R.J. et al. // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA. Neurobiol.* 1997. V. 94. P. 8214-8219.
7. Barrallo A., Gonzalez-Sarmiento R., Porteros A. et al. // *Biochem. and Biophys. Res. Commun.* 1998. V. 245. № 2. P. 544-548.