РОССИЙСКИЙ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ им. И.М. СЕЧЕНОВА 2022, том 108, № 1, с. 121–128

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

ЭФФЕКТЫ АНАЛОГА ГОНАДОТРОПИН-РИЛИЗИНГ ГОРМОНА СУРФАГОНА НА БОЛЕВУЮ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ У КРЫС

© 2022 г. И. И. Бобынцев[1], *, А. О. Ворвуль[1], М. Е. Долгинцев[1], А. А. Крюков[1]

[1]Курский государственный медицинский университет, Курск, Россия

**E-mail: bobig@mail.ru*

Поступила в редакцию 23.10.2021 г.
После доработки 16.11.2021 г.
Принята к публикации 17.11.2021 г.

Исследовано влияние внутрибрюшинного введения синтетического аналога-агониста гонадотропин-рилизинг гормона сурфагона на спинальные и супраспинальные механизмы формирования болевой чувствительности у интактных и кастрированных крыс-самцов Вистар. Болевое раздражение наносили переменным электрическим током на основание хвоста и регистрировали (в мА) пороги болевой чувствительности и эмоционально-аффективных реакций на боль. Введение сурфагона за 12 мин до начала эксперимента в дозах от 0.004 до 150 мкг/кг оказывало альгическое действие и усиливало вызванное болью эмоционально-аффективное поведение в дозах 0.004; 0.02 и 150 мкг/кг в тесте электрокожного раздражения хвоста. У гонадэктомированных животных через 12 дней после кастрации наблюдалось повышение большинства порогов болевых реакций. При введении пептида кастрированным крысам направленность отмеченных у интактных животных эффектов сохранялась, что свидетельствует об их стероидонезависимом характере. Полученные данные свидетельствуют о наличии как спинальных, так и супраспинальных механизмов алгического действия сурфагона при электроболевом раздражении у крыс.

Ключевые слова: регуляторные пептиды, аналог гонадотропин-рилизинг гормона, сурфагон, боль, кастрация

DOI: 10.31857/S0869813922010034

Регуляторные пептиды обладают свойством физиологической полифункциональности и могут оказывать значительное влияние на болевую реакцию организма на всех уровнях ее формирования. К их числу относится гонадотропин-рилизинг гормон (Гн-РГ), для которого кроме эндокринного действия установлен целый ряд “неклассических” (неэндокринных) нейротропных эффектов: влияние на тревожность [1], агрессивно-оборонительное поведение [2], болевую чувствительность [3]. В выполненных ранее нами исследованиях с использованием различных способов введения, моделей оценки боли и вызванного ею поведения было показано влияние синтетического аналога-агониста Гн-РГ сурфагона на болевую чувствительность и болевые агрессивно-оборонительные реакции, а также зависимость его эффектов от функционального состояния гипоталамо-гипофизарно-гонадальной системы [2, 3]. Однако до настоящего времени оставался невыясненным вопрос о значении спинальных и супраспинальных механизмов в реализации эффектов сурфагона на формирование боли. Актуальность данного исследования также обу-

словлена достаточно широким практическим использованием синтетических аналогов Гн-РГ, в том числе при заболеваниях с болевым синдромом [4–7].

Целью работы являлось выяснение уровней локализации механизмов влияния аналога-агониста Гн-РГ сурфагона на болевую чувствительность у крыс.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа выполнена с использованием интактных и кастрированных крыс-самцов Вистар массой 180–200 г, которые содержались при режиме 12 ч – свет, 12 ч – темнота и температуре 22 ± 2°C. Подопытные животные были разделены на 7 групп по 10 особей. Двухстороннюю орхидэктомию выполняли за 12 дней до начала тестирования.

Аналог-агонист Гн-РГ сурфагон (синтезирован в НМИЦ кардиологии МЗ РФ) растворяли в физиологическом растворе NaCl и вводили внутрибрюшинно за 12 мин до начала опыта в дозах 0.004; 0.02; 0.01; 1.5; 15 и 150 мкг/кг. Контрольные группы получали эквивалентные объемы физиологического раствора.

Исследования проводили с 9 до 15 ч. Для определения порогов электрокожной болевой чувствительности крысам на основание хвоста накладывали пластинчатые электроды и наносили раздражение переменным электрическим током с помощью установки Shocker LE 100-26 (Panlab, Испания). Пороги болевых реакций у крыс регистрировали в мА с помощью цифрового мультиметра UT804 (Uni-Trend, КНР). На каждом животном проводили 2 испытания с интервалом 1 мин.

Все процедуры, выполненные в исследованиях с участием животных, соответствовали этическим стандартам, утвержденным правовыми актами РФ, директиве 2010/63/EU Европейского Парламента и Совета Европейского Союза от 22 сентября 2010 г. по охране животных, используемых в научных целях, принципам Базельской декларации и рекомендациям Регионального этического комитета при Курском государственном медицинском университете (протокол № 3 от 16.11.2020).

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием интегрированной среды разработки для языка R “RStudio Desktop 1.4.1717” (RStudio, PBC, США, https://www.rstudio.com). Полученные результаты представлены в виде диаграмм boxplot. Достоверность выявленных различий между двумя группами определяли с помощью *U*-критерия Манна–Уитни (пакет “coin”), тремя и более – критерия Краскела–Уоллиса с post hoc анализом Данна (пакет “dunn.test”). Различия считались статистически значимыми при $p < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Сурфагон в использованных дозах оказывал существенное алгическое влияние на болевую чувствительность у крыс (рис. 1), выраженность которого зависела от дозы. При введении в дозе 0.004 мкг/кг пептид вызывал значительное снижение порогов как собственно болевых (напряжение хвоста, поворот головы к электродам), так и эмоционально-аффективных реакций (вращение, вокализация, кусание электродов) на 31–37% ($p < 0.05$).

При повышении дозы препарата до 0.02 мкг/кг отмечалось ослабление его эффектов: снижение порогов реакции напряжения хвоста составляло в среднем 17% и не достигало достоверно значимых различий. При этом снижение порогов реакций поворота головы, вокализации и вращения на 21–27% ($p < 0.05$) имело менее выраженный характер, чем в предыдущей группе. Однако эмоционально-аффективная реакция кусания электродов имела самые низкие пороги среди всех подопытных групп.

Увеличение вводимой дозы сурфагона до 0.1 мкг/кг не вызывало значимых изменений исследованных показателей. При этом проявилась тенденция к повыше-

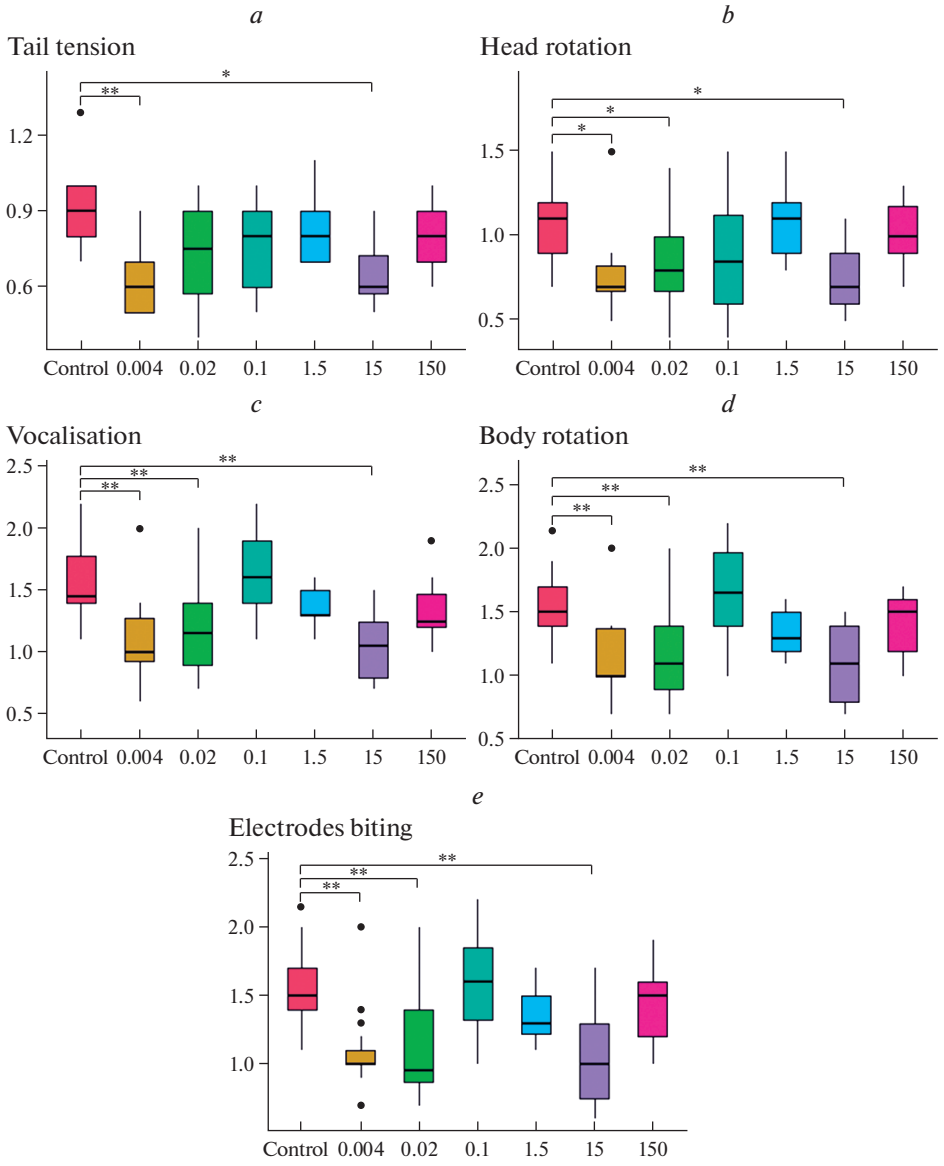

Рис. 1. Величина порогов болевых реакций у крыс в тесте электрокожного раздражения хвоста после внутрибрюшинного введения сурфагона (в мА). (*a*) – напряжение хвоста, (*b*) – повороты головы, (*c*) – вокализация, (*d*) – повороты тела, (*e*) – кусание электродов. Полужирная черта – медиана, ящик – межквартильный размах, усы – крайние значения вариационных рядов, полужирная точка – выброс. * – $p < 0.05$ в сравнении с контрольной группой (по критерию Краскела–Уоллиса с post hoc анализом Данна), ** – $p < 0.01$ в сравнении с контрольной группой (по критерию Краскела–Уоллиса с post hoc анализом Данна).

нию порогов проявления эмоционально-аффективных реакций на фоне снижения болевой чувствительности. Дальнейшее увеличение дозы пептида до 1.5 мкг/кг, как и в предыдущей подопытной группе, не вызывало достоверно значимых сдвигов.

В то же время у крыс, получавших сурфагон в дозе 15 мкг/кг, вновь проявилось алгическое действие, по выраженности сравнимое после введения пептида в минимальных дозах (на 27–36%, $p < 0.05$). Однако в наибольшей дозе – 150 мкг/кг, эффекты пептида вновь нивелировались.

Кастрация вызвала статистически достоверное повышение порогов большинства исследованных реакций на болевое раздражение на 25–33% ($p < 0.05$), кроме реакции поворота головы.

Эффекты пептида у кастрированных животных, как и у контрольных, имели алгическую направленность (рис. 2) с наибольшей выраженностью в наименьшей использованной дозе 0.004 мкг/кг, при которой пороги большинства реакций снижались на 23–30% ($p < 0.05$). При этом следует отметить отсутствие достоверно значимых изменений реакции поворота головы во всех подопытных группах кастрированных крыс. Увеличение вводимой дозы до 0.02 мкг/кг сопровождалось снижением эффектов пептида в отношении эмоционально-аффективных реакций вращения и кусания электродов при выраженном снижении порогов напряжения хвоста (на 38%, $p < 0.05$).

В подопытных группах, которым вводили сурфагон в дозах 0.1 и 1.5 мкг/кг, изменения всех исследованных реакций были слабовыраженными и не достигали достоверных различий.

Дальнейшее увеличение вводимой дозы сурфагона вновь сопровождалось проявлением его статистически значимых эффектов. Так, после введения сурфагона в дозе 15 мкг/кг наблюдалось снижение порогов реакции вращения (на 13%, $p < 0.05$), а в дозе 150 мкг/кг снижение порогов как спинальной реакции напряжения хвоста, так и супраспинальных эмоционально-аффективных проявлений в виде вокализации и вращения (на 13–25%, $p < 0.05$).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Полученные в работе результаты показали алгическое действие сурфагона как у интактных, так и у кастрированных крыс, которое имело выраженный дозозависимый характер. Установленное наличие действия пептида в наименьших и наибольших использованных дозах при отсутствии в промежуточных является проявлением *U*-эффекта, характерного для регуляторных пептидов. Данный эффект связывают с активацией при различных дозах разных систем вторичных мессенджеров [8, 9] и, следовательно, с возможностью активации различных нервных структур.

Использованная модель боли при раздражении путем фиксации электродов на хвост позволяет в одном опыте оценить спинальные (сегментарные) и супраспинальные (надсегментарные) болевые реакции, тогда как при температурном воздействии подобные результаты можно получить только при использовании двух тестов – “горячая пластина” и “отдергивание хвоста” [10]. Механизмы реакции напряжения хвоста локализованы на спинальном (сегментарном) уровне, остальные проявления болевого поведения имеют супраспинальное происхождение [11]. В выполненном нами ранее исследовании сурфагон в аналогичном интервале доз в тесте “горячая пластина” оказывал у интактных мышей-самцов преимущественно анальгетическое действие [3]. В основе этих различий могут находиться данные о том, что механизмы формирования боли имеют ряд нейрохимических особенностей на сегментарном уровне в зависимости от вида раздражителя. Так, при температурном воздействии в передаче болевых импульсов на нейроны задних рогов спинного мозга принимают участие соматостатин, нейрокинин А и нейрокинин$_2$-рецепторы [12, 14]. При электрокожном раздражении происходит возбуждение механических ноцицепторов [13] и на спинальном уровне в болевой трансмиссии участвуют вещество Р и нейрокинин$_1$-рецепторы [12, 14]. Данные особенности сег-

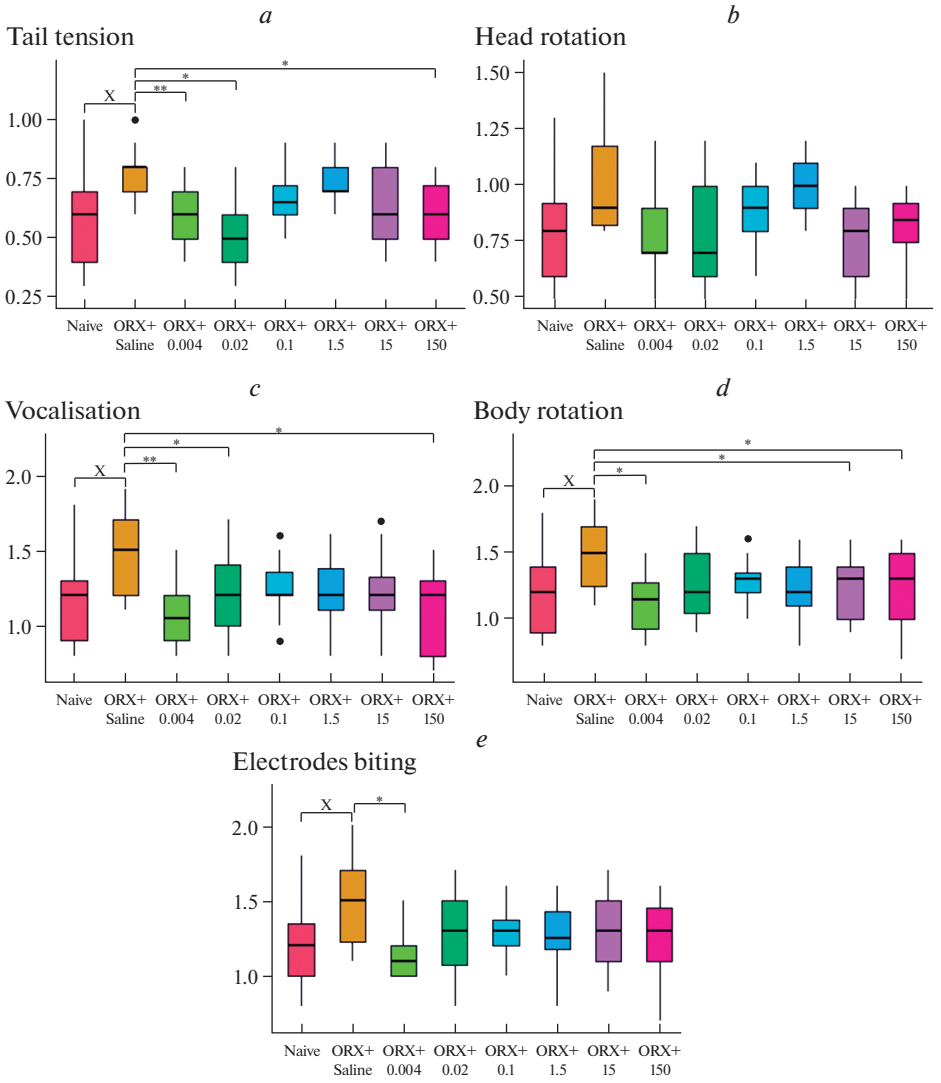

Рис. 2. Величина порогов болевых реакций у кастрированных крыс в тесте электрокожного раздражения хвоста после внутрибрюшинного введения сурфагона (в мА). (*a*) – напряжение хвоста, (*b*) – повороты головы, (*c*) – вокализация, (*d*) – повороты тела, (*e*) – кусание электродов. Полужирная черта – медиана, ящик – межквартильный размах, усы – крайние значения вариационных рядов, полужирная точка – выброс. ORX – кастрация, x – $p < 0.05$–0.01 в сравнении с контрольными животными (по *U*-критерию Мана–Уитни). * – $p < 0.05$ в сравнении с контрольной группой кастрированных животных (по критерию Краскела–Уоллиса с post hoc анализом Данна). ** – $p < 0.001$ в сравнении с контрольной группой кастрированных животных (по критерию Краскела–Уоллиса с post hoc анализом Данна).

ментарных ноцицептивных механизмов могут являться основой различий эффектов сурфагона при электрокожном и температурном раздражении, а также свидетельствовать о наличии сложного пептидергического механизма болевой нейротрансмиссии на спинальном уровне. Согласно представлениям о континууме регуляторных пептидов как функционально-непрерывной совокупности [15], Гн-РГ

может иметь иерархические взаимоотношения с участвующими в спинальной болевой нейротрансмиссии пептидами (соматостатин, вещество Р, нейрокинин А, кальцитонин-ген родственный пептид), а его аналоги-агонисты – влиять на данные процессы. Также необходимо учитывать, что входящая в структуру молекулы сурфагона аминокислота L-аргинин является источником оксида азота, который участвует в болевой нейротрансмиссии в спинном мозге [16].

При анализе полученных данных обращает внимание недостоверное ослабление спинального болевого рефлекса после введения сурфагона интактным животным в дозе 0.02 мкг/кг на фоне ярко выраженных эмоционально-аффективных реакций. Подобный характер действия пептида позволяет заключить, что механизмы их реализации находятся преимущественно на супраспинальном уровне и согласуется с описанной ранее активацией агрессивно-оборонительного поведения при неизбегаемом электроболевом раздражении [2] и анксиогенным действием сурфагона [1]. Отмеченное при этом усиление спинальных болевых рефлексов может проявляться как вследствие действия пептида непосредственно на сегментарном уровне, так и за счет ослабления нисходящих антиноцицептивных влияний из головного мозга. Известно, что в центральном сером веществе среднего мозга установлено связывание Гн-РГ и его аналогов со специфическими рецепторами [17, 18], поэтому изменение функционального состояния нейронов данной структуры может оказывать существенное влияние на болевые реакции. Кроме того, рецепторы к Гн-РГ локализованы в гиппокампе и миндалевидном комплексе [19] и связывание с ними может оказывать влияние на супраспинальные механизмы формирования боли.

Повышение порогов болевых реакций после кастрации во многом может быть связано с усилением активности серотонинергической системы [20], которая играет важную роль в активации сегментарных антиноцицептивных механизмов. О стероидонезависимом характере действия сурфагона свидетельствует сохранение направленности и выраженности его алгического действия после кастрации. Обращает внимание изменение болевых реакций после введения сурфагона в дозе 0.02 мкг/кг кастрированным животным (значительное повышение болевой чувствительности на фоне ослабления эмоционально-аффективных поведенческих реакций), противоположное эффекту пептида в данной дозе у интактных животных. Преобладание ослабления супраспинальных реакций отмечалось и после введения кастрированным крысам пептида в дозе 150 мкг/кг. Полученные на кастрированных животных данные показывают значение функционального состояния гипоталамо-гипофизарно-гонадальной системы в реализации эффектов сурфагона в отношении ноцицептивной чувствительности и вызванного болью поведения, а также свидетельствуют об участии пептида в данных процессах как на спинальном, так и супраспинальном уровнях. Следует отметить, что сурфагон у кастрированных мышей в тесте “горячая пластина” также оказывал алгическое действие [3].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, аналог-агонист Гн-РГ сурфагон при внутрибрюшинном введении в интервале доз от 0.004 до 150 мкг/кг оказывал у крыс алгическое действие и усиливал вызванное болью эмоционально-аффективное поведение в дозах 0.004; 0.02 и 150 мкг/кг в тесте электрокожного раздражения хвоста. У гонадэктомированных животных наблюдалось повышение большинства порогов болевых реакций. При введении пептида через 12 дней после кастрации направленность отмеченных у интактных животных эффектов сохранялась, что свидетельствует об их стреоидонезависимом характере. Полученные данные свидетельствуют о наличии как спинальных, так и супраспинальных механизмов алгического действия сурфагона при электроболевом раздражении у крыс.

Результаты проведенных исследований расширяют представления о физиологических эффектах регуляторных пептидов и их полифункциональности, а данные о повышении болевой чувствительности и усилении эмоционально-аффективных реакций на боль необходимо учитывать при клиническом применении аналогов-агонистов Гн-РГ.

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена за счет средств Курского государственного медицинского университета.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией данной статьи.

ВКЛАД АВТОРОВ

Концепция и дизайн исследования (И.И.Б.); сбор, обработка материала, статистический анализ данных (А.О.В., М.Е.Д., А.А.К.); написание текста (И.И.Б., М.Е.Д.).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Masalova OO, Kazakova SB, Savateeva-Lyubimova TN, Sivak KV, Sapronov NS, Shabanov PD* (2019) Effect of Surfagon on Open Field and Elevated Plus Maze Behavior of Gonadectomized and Non-Gonadectomized Male Rats. Bull Exp Biol Med 168(1): 52–54. https://doi.org/10.1007/s10517-019-04644-4
2. *Severianova LA, Bobyntsev II* (1995) Neurotropic effects of an luliberin analog administered intraventricularly to rats with varying sensitivity to ethanol. Bull Exp Biol Med 119(2): 120–123. https://doi.org/10.1007/BF02445854
3. *Bobyntsev II, Sever'yanova LA, Kryukov AA* (2006) Effect of gonadotropin-releasing hormone analogue on thermal nociception in mice. Bull Exp Biol Med 141(2): 193–196. https://doi.org/10.1007/s10517-006-0125-0
4. *Della Corte L, Barra F, Mercorio A, Evangelisti G, Rapisarda AMC, Ferrero S, Bifulco G, Giampaolino P* (2020) Tolerability considerations for gonadotropin-releasing hormone analogues for endometriosis. Expert Opin Drug Metab Toxicol 16(9): 759–768. https://doi.org/10.1080/17425255.2020.1789591
5. *Rossi L, Pagani O* (2018) The role of gonadotropin-releasing-hormone analogues in the treatment of breast cancer. J Womens Health (Larchmt) 27(4): 466–475. https://doi.org/10.1089/jwh.2017.6355
6. *Ortmann O, Weiss JM, Diedrich K* (2002) Gonadotrophin-releasing hormone (GnRH) and GnRH agonists: mechanisms of action. Reprod Biomed Online 5(1): 1–7. https://doi.org/10.1016/s1472-6483(11)60210-1
7. *Bereket A* (2017) A critical appraisal of the effect of gonadotropin-releasing hormon analog treatment on adult height of girls with central precocious puberty. J Clin Res Pediatr Endocrinol 9(2): 33–48. https://doi.org/10.4274/jcrpe.2017.S004
8. *Konda Y, Gantz I, DelValle J, Shimoto Y, Miwa H, Yamada T* (1994) Interaction of dual intracellular signaling pathways activated by the melanocortin-3 receptor. J Biol Chem 269(18): 13162–13166.
9. *Buggy JJ* (1998) Binding of alpha-melanocyte-stimulating hormone to its G-protein-coupled receptor on B-lymphocytes activates the Jak/STAT pathway. Biochem J 331(Pt 1): 211–226. https://doi.org/10.1042/bj3310211
10. *Воронина ТА, Гузеватых ЛС* (2012) Методические рекомендации по изучению анальгетической активности лекарственных средств. В кн.: Миронов АН (отв ред) Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть 1. М. Гриф и К. 197–218. [*Voronina TA, Guzevatykh LS* (2012) Methodological recommendations for the study of analgesic activity of drugs. 197–218. In: Guidelines for conducting preclinical studies of medicines. Mironov AN (ed) Vol 1. M. Grif and K. 197–218. (In Russ)].
11. *Severyanova LA, Lazarenko VA, Plotnikov DV, Dolgintsev ME, Kriukov AA* (2019) L-Lysine as the molecule influencing selective brain activity in pain-induced behavior of rats. Int J Mol Sci 20(8): 1899. https://doi.org/10.3390/ijms20081899

12. *Zieglgänsberger W* (2019) Substance P and pain chronicity. Cell Tissue Res 375(1): 227–241. https://doi.org/10.1152/10.1007/s00441-018-2922-y
13. *Treede RD, Margel W* (1995) Modern concepts of pain and hyperalgesia beyond the polymodal C-nociceptor. Physiology 10(5): 216–228. https://doi.org/10.1152/physiologyonline.1995.10.5.216
14. *Harris JA, Faust B, Gondin AB, Dämgen MA, Suomivuori CM, Veldhuis NA, Cheng Y, Dror RO, Thal DM, Manglik A* (2021) Selective G protein signaling driven by substance P-neurokinin receptor dynamics. Nat Chem Biol. https://doi.org/10.1038/s41589-021-00890-8
15. *Koroleva SV, Nikolaeva AA, Ashmarin IP* (2012) Types of bioinformatic programs in the continuum of regulatory peptides and non-peptide mediators. Traits of interaction of dopamine and serotonin systems. Neurochem J 6(2): 132–143.
16. *Severyanova LA, Bobyntsev II, Plotnikov DV, Lyashev YD* (2001) Nitric oxide synthesis in the brain mediates neuro-peptide effects on pain sensitivity and pain-induced aggression. Analgesia 5(3/4): 223–237.
17. *Jennes L, Conn PM* (1994) Gonadotropin-releasing hormone and its receptors in rat brain. Front Neuroendocrinol 15(1): 51–77. https://doi.org/10.1006/frne.1994.1003
18. *Jennes L, Eyigor O, Janovick JA, Conn PM* (1997) Brain gonadotropin releasing hormone receptors: localization and regulation. Recent Prog Horm Res (52): 475–491.
19. *Leblanc P, Crumeyrolle M, Latouche J, Jordan D, Fillion G, L'Heritier A, Kordon C, Dussaillant M, Rostène W, Haour F* (1988) Characterization and distribution of receptors for gonadotropin-releasing hormone in the rat hippocampus. Neuroendocrinology 48(5): 482–488. https://doi.org/10.1159/000125053
20. *Nayebi AR, Ahmadiani A* (1999) Involvement of the spinal serotonergic system in analgesia produced by castration. Pharmacol Biochem Behav 64(3): 467–471. https://doi.org/10.1016/s0091-3057(99)00113-6

Effects of Gonadotropin-Releasing Hormone Analogue Surfagon on Rats' Pain Sensitivity

I. I. Bobyntsev[a], *, A. O. Vorvul[a], M. E. Dolgintsev[a], and A. A. Kriukov[a]

[a] *Kursk State Medical University, Kursk, Russia*
* *e-mail: bobig@mail.ru*

We investigated the effects of synthetic analogue-agonist of gonadotropin-releasing hormone surfagon administered intraperitoneally on the spinal and supraspinal mechanisms of pain formation in naïve and castrated male Wistar rats. Painful irritation was inflicted with alternating current on the tail base and pain sensitivity thresholds (in mA) and emotional-affective reactions were registered. Surfagon administration 12 min before the experiments at doses 0.004–150 μg/kg demonstrated algic activity and exaggerated pain-induced emotional-affective behaviour at doses 0.004, 0.02, and 150 μg/kg. We observed higher pain thresholds in rats on the 12th day after castration. When the peptide was administered to castrated rats, the directivity of the effects observed in intact animals was same, which indicates their steroid-independent nature. Data obtained demonstrates the presence of both spinal and supraspinal mechanisms of Surfagon algic activity in rats when electrocutaneous irritation.

Keywords: regulatory peptides, gonadotropin-releasing hormone analogue, Surfagon, pain, castration