

[https://doi.org/10.18524/2077-1746.2023.2\(53\).293327](https://doi.org/10.18524/2077-1746.2023.2(53).293327)

УДК: 615.255:615.31:615.11

Ю. О. Молодан¹, аспірант

В. Б. Ларіонов², д.б.н., завідувач лабораторії

І. Ю. Борисюк³, д.фарм.н., завідувач кафедри

О. А. Макаренко¹, д.б.н., завідувач кафедри

¹ Одеський національний університет імені І. І. Мечникова, кафедра фізіології, здоров'я і безпеки людини та природничої освіти, Одеса, вул. Дворянська, 2, 65082, Україна, e-mail: yuliabonbonka@gmail.com

² Фізико-хімічний інститут ім. О. В. Богатського НАН України, лабораторія молекулярної фармакології та медицини, Одеса, вул. Люстдорфська дорога, 86, 65080, Україна

³ Міжнародний гуманітарний університет, кафедра загальної та клінічної фармакології, Одеса, вул. Фонтанська дорога, 23а, 65016, Україна

ТВАРИННІ МОДЕЛІ *IN VIVO* ДЛЯ СКРИНІНГУ ПОТЕНЦІЙНИХ ПРОТИЗАПАЛЬНИХ ТА ЗНЕБОЛЮВАЛЬНИХ ЗАСОБІВ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

Дослідження на тваринних моделях є ключовим етапом у розробці нових лікарських препаратів. Незважаючи на різноманітність моделей *in vivo*, правильний вибір моделі є важливим етапом доклінічного дослідження потенційних сполук. Було розглянуто поширені моделі скринінгу потенційних протизапальних та знеболювальних засобів, надано їх переваги та обмеження, що є важливим визначальним чинником при виборі найбільш придатної стратегії для подальших досліджень.

Ключові слова: анальгетична дія; протизапальна дія; моделі *in vivo*

Біль є одним з найпоширеніших симптомів, що супроводжує понад 90% захворювань. Експерти ВООЗ визначають, що больові синдроми у 40% населення є ключовим фактором звернень за первинною медичною допомогою, а 20% усього дорослого населення живе з постійним болем [9].

Біль представляє собою спонтанне суб'єктивне відчуття, яке виникає внаслідок передачі надмірних або шкідливих сигналів до центральної нервової системи (ЦНС) і може призводити до функціональних розладів у функціонуванні організму. Він необхідний для нормальної життєдіяльності організму і попередження шкідливих впливів та є корисною сигнальною функцією, що допомагає організму реагувати на небезпеку. Однак, разом з тим, незважаючи на корисну сигнальну функцію, яка допомагає організму реагувати на небезпеку, біль може спричиняти ряд патологічних ефектів (страждання, обмеження рухів, порушення мікроциркуляції, зниження імунного захисту та розлад функцій органів і систем). Фізіологічні сполуки – альгогени є медіаторами хімічного подразнення,

які в мінімальних концентраціях спричиняють больове відчуття. Існує декілька груп альгогенів: 1) тканинні (наприклад, гістамін), тромбоцитів (АТФ, серотонін), нейтрофілів (лейкотрієни), макрофагів та ендотелію (інтерлейкін-1, фактор некрозу пухлин, ендотеліни, простагландини, оксид азоту NO); 2) плазми крові (брадикінін, калідин), альгогени, що вивільняються з периферичних закінчень С-ноцицепторів (субстанція Р, нейрокінін А, кокальцигенін); 3) збуджувальні амінокислоти (L-глутамат, L-аспартат), які вивільняються нейронами спинного мозку при дії ноцицептивних імпульсів [2, 11].

Біль і запалення пов'язані між собою через складні фізіологічні механізми, які виникають у відповідь на травму, інфекцію або інші подразники. Біль є одним з важливих нормальних фізіологічних механізмів та неодмінним симптомом запалення як типового патологічного процесу й супроводжує більшість відомих захворювань [3]. Запалення як типовий патологічний процес є складною та комплексною реакцією організму у відповідь на екзогенні та ендогенні подразники, що запускають цілий каскад патофізіологічних процесів, які охоплюють усю ноцицептивну систему та регуляторні системи організму. Запалення може бути спричинене будь-яким фактором (флогеном), який може завдати тканинам пошкодження. Флогени поділяються на зовнішні та внутрішні. Зовнішні флогени можуть бути різного характеру, включаючи біологічні (найчастіше інфекційні, такі як бактерії, рикетсії, віруси, грибки, тварини-паразити), фізичні (механічні, термічні, радіаційні) та хімічні (кислоти, луги, бойові отруйні речовини, скипидар, різні види олій тощо). Внутрішні фактори, які можуть спричинити запалення, включають фокус некрозу тканини, гематоми, відкладення солей, імунні комплекси і інше. Пошкодження тканин призводить до викиду вазонейроактивних речовин, які викликають не лише запалення, а й виражену больову реакцію. Ця реакція характеризується підвищеною чутливістю ноцицепторів до подальших подразнень [13]. Гострий запальний стан проявляється у вигляді жару, почервоніння, болю, набрякості та часткової втрати функцій. В той же час, підвищується проникність судин, збільшується кровотік та відбувається сенсibiliзація нервових волокон, які пов'язані з почервонінням, набряком та болем. У нормальному стані організму запальний каскад є важливим захисним механізмом, який допомагає боротися зі збудниками інфекцій, виправляти пошкодження тканин і сприяє їх загоєнню. Цей процес контролюється різними медіаторами запалення, такими як цитокіни, хемокіни, фактори згортання крові і інші молекули. Проте, при хронічних станах, таких захворюваннях як хронічний запальний процес, автоімунні захворювання, дегенеративні захворювання, цей баланс може бути порушений. В таких умовах запальний процес може стати надмірним і тривалим. Такий стан може призвести до шкоди для тканин організму, оскільки запальний каскад постійно активований і може сприяти руйнуванню тканин. При тривалому впливі це може призвести до хронічних захворювань і ускладнень, таких як ревматоїдний артрит, хронічне запальне захворювання кишківника (напри-

клад, хронічний коліт), хронічні обструктивні захворювання легень (ХОЗЛ), атеросклероз і багато інших. При цьому, хронічні запальні процеси можуть бути супроводжувані вираженими клінічними симптомами і потребують лікування для зниження запалення і запобігання подальшому руйнуванню тканин [5, 11].

Отже, регуляція болю, а також запалення є актуальною проблемою медицини та фармакотерапії. На сьогоднішній день існує значний асортимент нестероїдних протизапальних засобів (НПЗЗ), які найчастіше використовуються як знеболювальні засоби та одночасно для гальмування запалення, проте, застосування таких препаратів протягом певного часу не вирішує проблему лікування запальних процесів та їх рецидивів. Пов'язано це з тим, що тривале застосування НПЗЗ призводить до появи великої кількості небажаних ефектів. Отже, розробка безпечного лікарського засобу протизапальної та знеболювальної дії на сьогодні залишається актуальним питанням сучасної медицини та фармації.

Тому **метою роботи** є узагальнення інформації відносно найбільш поширених моделей скринінгу протизапальних і знеболювальних засобів, визначення меж їх ефективного застосування, приділення уваги механізмам дії для визначення можливих обмежень цих моделей. Це передбачає аналіз результатів інших наукових досліджень, які використовують подібні моделі скринінгу, і подальше порівняння їх з отриманими даними з метою з'ясування переваг та недоліків кожної моделі.

Матеріали та методи досліджень

В огляді літератури були використані такі методи: пошук інформації в наукометричних базах даних PubMed, Google Scholar та інших за ключовими словами: «animal models», «screening», «anti-inflammatory», «analgesic» та аналіз отриманих даних. До огляду були включені статті, опубліковані в період з 2013 по 2023 рік, які містили інформацію про найбільш поширені тваринні моделі скринінгу протизапальних препаратів (гострого запалення: карагенін-індукований та декстран-індукований набряк лап; хронічного запалення: формалін-індукований та гранульома, індукована бавовняними гранулами) і знеболювальних препаратів (теплого подразнення: метод гарячої пластинки, метод занурення у гарячу воду; електричного подразнення: електростимуляція хвоста) на лабораторних тваринах (зокрема, мишах та щурах). Отримані дані були піддані аналізу та узагальненню для оцінки ефективності кожної з моделей для пошуку протизапальних та знеболювальних препаратів.

Результати та їх обговорення

Необхідність розробки нових більш безпечних й ефективних протизапальних та знеболювальних засобів лікарських засобів для корекції больового синдрому та самого запалення є актуальною проблемою фармакотерапії. Ключову

роль серед найпоширеніших препаратів, що використовуються для зменшення запальних і больових реакцій організму займають НПЗЗ або ненаркотичні анальгетики [5]. Але, не зважаючи на значну кількість наявних знеболювальних та протизапальних засобів, побічні ефекти обмежують їх застосування, стимулюючи пошук нових молекул з вираженою протизапальною та анальгетичною діями, для створення на їх основі більш ефективних й безпечних лікарських засобів. Вибір правильної моделі скринінгу на тваринах для доклінічної оцінки є достатньо складним завданням у встановленні ефективності та механізму дії лікарських засобів [1, 10]. Відомо багато моделей скринінгу потенційних сполук, але правильний вибір моделі має вирішальне значення та створює вагомий виклик у розробці нових лікарських препаратів. Невірний вибір моделі може призвести до хибних результатів та обмежити відкриття перспективних сполук, тому системний підхід у виборі моделей скринінгу є досить важливим.

Поширені моделі скринінгу протизапальних препаратів на експериментальних тваринах

Усі експериментальні дослідження на лабораторних тваринах необхідно проводити згідно з вимогами GLP (Належної лабораторної практики), рекомендацій комітету з біоетики Державного фармакологічного центру МОЗ України (Київ, 2001 р.) та законом України «Про захист тварин від жорсткого поводження» від 21 лютого 2006 року № 3447-IV зі змінами. А також, відповідно до «концепції 3R» (reduction, refinement, replacement), запропонованої Расселом і Берчем у 1959 році та вимог «Європейської конвенції захисту хребетних тварин, яких використовують з експериментальною та іншою науковою метою» (Страсбург, 1986), що стали об'єднаною законодавчою основою для проведення біомедичних досліджень в європейських країнах. Загалом, загальні етичні вимоги до використання лабораторних тварин у біомедичних дослідженнях допускаються лише в тому випадку, якщо вони мають на меті отримання нових наукових знань, поліпшення здоров'я людини і тварин, є необхідними для якісної підготовки фахівців, проведення випробувань нових лікарських сполук, судово-медичних експертиз, що не станове загрози для здоров'я людини. Проведення експериментальних досліджень на тваринах є виправданими, якщо є достатньо підстав для отримання результатів, які будуть суттєво сприяти досягненню хоча б однієї із зазначених вище цілей. Використання тварин в дослідженнях тварин неприпустимо, якщо цілі можуть бути досягнуті іншими засобами [4].

Найбільш поширеними моделями скринінгу протизапальних препаратів є моделювання запального набряку субплантарним введенням (у підшову області задньої лапи лабораторних тварин) карагеніну та формаліну. Обидві моделі дозволяють дослідникам вивчати запальні процеси та оцінювати ефективність протизапальних препаратів й визначати їх вплив на біль та запалення в тваринних організмах. Вони є важливими інструментами у доклінічних дослідженнях нових лікарських засобів для лікування запальних захворювань та болю.

1) Карагенін-індукований набряк лап (Carrageenan-induced paw edema).

Модель набряку лапи лабораторних тварин є поширеною моделлю скринінгу перспективних протизапальних речовин. До класичних ознак запалення відноситься порушення мікроциркуляції та формування набряку як реакції тканини на пошкодження. Карагенін є неантигенним запальним агентом, який не спричиняє помітних системних ефектів, не викликає імунної відповіді, схожої на інфекцію або інший антиген. Введення карагеніну у тканини зазвичай спричиняє локальну запальну реакцію у місці введення, але не викликає загальних системних реакцій чи захворювань. Карагенін містить сульфатні цукри, які здатні активувати систему комплементу, що відповідає за запалення та медіатори запалення, стимулює фосфоліпазу A2, що викликає ранню (первинну) фазу запалення, а цитотоксичні ефекти посилюють розвиток запалення [9, 12]. Розширює карагенін і посткапілярні венули, що сприяє ексудації запальної рідини та клітин у зоні запалення. Запальний процес супроводжується вивільненням декількох медіаторів запалення, таких як гістамін та серотонін. Описані явища після введення карагеніну відображають первинну ексудативну фазу запалення, подальше пригнічення цих запальних подій може призвести до припинення запального процесу. Модель карагенін-індукованого набряку лап пов'язують з активацією циклооксигеназного шляху. Глюкокортикоїди та антагоністи простагландинів виявляють протизапальну активність у цій моделі, що свідчить про їх потенційну ефективність в контролі запалення [10]. Після введення карагеніну розвиток набряку у лабораторних тварин характеризується двофазовою кривою, що свідчить про послідовний розвиток різних стадій запалення з часом. Ця крива може бути використана для візуалізації та аналізу динаміки запалення, яке спричиняється карагеніном. Рання фаза запалення після введення карагеніну, частково пов'язана ще й з травмою від ін'єкції та характеризується швидким збільшенням об'єму тканин і ексудацією запальної рідини. Відбувається вивільнення медіаторів – гістаміну та серотоніну, що сприяють вазодилатації та збільшенню проникнення крові у тканини. Друга фаза настає через 3 години і ключову роль відіграють простагландини у подальшому розвитку запалення, спричиняючи збільшення проникнення рідини та клітин у тканини, що призводить до подовження набряку та запалення.

1% суспензію карагеніну (0,1 мл) обережно вводять у підшву області задньої лапи кожної піддослідної лабораторної тварини. Ступінь набряку у тварин оцінюють за різницею між об'ємом набряклої стопи та об'ємом стопи перед введенням речовини. Вимірюють плетизмометром чи штангенциркулем через годину, потім через 6 годин. Оцінюють протизапальну ефективність сполук за їх здатністю пригнічувати запальну реакцію у тварин, порівнюючи з контрольними даними (в %). Результати обчислюють за формулою:

$$\% \text{ пригнічення запалення} = \frac{(\Delta V_{\text{к}} - \Delta V_{\text{д}})}{\Delta V_{\text{к}}} * 100\%,$$

де: ΔV_k – середнє збільшення об'єму набряку (контроль); ΔV_d – середнє збільшення об'єму набряку після введення карагеніну [3].

Перевагою методу є легка відтворюваність та можливе залучення декількох механізмів, що дозволяє використовувати його як попередній тест для оцінки протизапальних засобів, а двофазна відповідь після субплантарної ін'єкції дає можливість передбачити вірогідні біологічні мішені досліджуваного препарату при запаленні. Недоліком методу є наявність підготовки лабораторних тварин, особливо акліматизації задля мінімізації наслідків стресу, наявність приладу для вимірювання об'єму лапи (наприклад, плетизмометру) та точне дозування карагеніну, оскільки при збільшенні дозування швидше наростає набряк і його важче пригнічувати.

2) *Набряк лап, викликаний декстраном* (Dextran-induced paw edema). Набряк лап, викликаний декстраном, є ще однією експериментальною моделлю, яка використовується в досліджах на тваринах для вивчення запальних реакцій та набряку. У цій моделі набряк лапи тварини спричиняється за допомогою декстрану, який викликає збільшення проникнення рідини з крові у тканини, що призводить до набряку, активації системи кінінів, вивільнення гістаміну та серотоніну з тучних клітин. Запалення провокують введенням 2% декстрану в фізіологічному розчині (0,1 мл) в підошовну область лап тварини. Введення декстрану призводить до швидкого і транзиторного розвитку набряку, що означає, що цей ефект спостерігається на короткий період часу. Гістамін та серотонін, вивільнені після введення декстрану, взаємодіють з відповідними рецепторами (наприклад, H_1 , H_2 та $5HT_2$), що спричиняє подальше збільшення проникності судин та розвиток набряку. Перевагою даного методу є можливість індукції набряку, використовуючи як гістамін, так і серотонін, що дозволяє вивчати протизапальний ефект антигістамінних або антисеротонінових препаратів, оцінюючи їх здатність зменшувати набряк, спричинений цими медіаторами. Ця модель може використовуватися для посилення результатів інших моделей запалення, наприклад, моделі карагенін-індукованого набряку лап. Недоліком методу є те, що модель специфічно орієнтована на ці два медіатори запалення, тому не є придатною для дослідження препаратів, що діють через інші механізми, відмінні від антигістамінних або антисеротонінових [7].

3) *Хронічне запалення. Модель набряку, викликаного формаліном* (Formalin-Induced paw edema). Цей метод із застосуванням формаліну підходить для скринінгу лікарських засобів при хронічному запаленні. Ноцицептивна дія формаліну відбувається в дві фази. Рання фаза характеризується гострим болем і пов'язана з нейрогенним компонентом і включає в себе виділення медіаторів гістаміну, серотоніну (5-НТ) і кінінів, які стимулюють нейрони, спричиняючи як біль, так і набряк. В цій фазі виникає прямий вплив на периферичні ноцицептори та відбувається активація немієлінових С-волокон. У пізній фазі поєднується запальна реакція в периферичній нервовій системі. Починається вона через 4-6 годин після введення формаліну і досягає максимуму через 24-48 годин. Максимальний набряк спостерігається через 4 години після моделю-

вання запалення. Відсоткове гальмування набряку при формалін-індукованому запаленні обчислюється за такою формулою:

$$\% \text{ гальмування набряку} = \frac{(\Delta V_c - \Delta V_t)}{\Delta V_c} * 100\%,$$

де: V_c – об'єм набряку у контрольній групі (до застосування препарату); V_t – об'єм набряку у групі, яка отримує тестовий препарат [8].

Ця формула дозволяє визначити, наскільки препарат здатен зменшити набряк порівняно з контрольною групою. Результат виражається у відсотках, і велике відсоткове гальмування вказує на сильний протизапальний ефект препарату. Перевагою цієї моделі є те, що вона пропонує метод оцінки активності препарату при тривалому запальному процесі запалення, двофазова реакція дозволяє вивчати різні аспекти болю та запалення. Недоліком методу є довготривалість експерименту.

4) Хронічне запалення. Гранульома, викликана бавовняними кульками (Cotton Pellet-Induced Granuloma) Ця модель є важливою для дослідження хронічного запалення та оцінки хронічної протизапальної активності нових сполук. Модель гранульоми відображає патологічні процеси, які спостерігаються при хронічному запаленні, включаючи інфільтрацію моноцитів, проліферацію фібробластів, ангиогенез і ексудацію. За допомогою цієї моделі оцінюються транссудативні та проліферативні елементи при хронічному запаленні. Відмінною рисою хронічного запалення є гранулематозне утворення тканини. Проліферація макрофагів, нейтрофілів і фібробластів разом з розмноженням дрібних кровоносних судин виробляє високоваскуляризовану червонувату масу, відому як грануляційна тканина (це різні клітини, такі як макрофаги, лімфоцити, гігантські клітини, іноді епітеліоїдні клітини тощо). Волога та суха маса гранульоми можуть бути пов'язані з формуванням транссудатної і гранулематозної тканини відповідно. Транссудатна тканина може бути викликана надмірним виходом рідини з кровоносних судин і може включати в себе різні компоненти, такі як білки та інші молекули. Гранулематозна тканина включає в себе гранулеми, які можуть бути утворені відповідно до імунологічних або запальних реакцій. Кортикостероїди, такі як преднізолон, можуть пригнічувати запалення в проліферативній фазі, впливати на імунну відповідь та запальний процес, зменшуючи активність різних клітин та молекул, що беруть участь в запаленні [14]. Перевагою методу є можливість вивчення ефективності лікарських препаратів та методів лікування хронічного запалення, так як слугує маркером запального процесу хронічного характеру, дозволяє вивчати вплив запалення на структуру та склад гранульоми, волога та суха вага якої можуть корелювати з кількістю транссудату та утворенням гранулематозної тканини. Недоліком моделі є використання хірургічних навичок медичного персоналу та введення анестетиків для імплантації та видалення бавовняних гранул і гранульоми, що може бути небезпечним для тварин та вимагає спеціалізованих знань та

ресурсів. Модель вимагає повторного маніпулювання тваринами, включаючи видалення гранульоми, що є недоліком з етичної точки зору.

Поширені моделі скринінгу анальгетичних препаратів на експериментальних тваринах

Найбільш поширеними моделями для скринінгу анальгетичних препаратів є методи з використанням теплових подразників, такі як метод гарячої пластинки та метод занурення у гарячу воду. Також використовуються методики з використанням електричних подразників. Моделі базуються на принципі, що біль є складним процесом, який включає активацію ноцицепторів (спеціалізованих сенсорних нейронів), що реагують на шкідливі подразники. Ці моделі відносно прості та недорогі, дозволяють швидко та ефективно оцінити анальгетичну активність.

1. Моделі з використанням теплових подразників:

Метод гарячої пластинки (Hot Plate models). Даний метод є базовим тестом для скринінгу анальгетичної активності сполук і виявлення їх ефективності, яке проявляється у поведінковій реакції тварин на теплове подразнення (облизування лап – швидка відповідь на тепловий подразник, стрибки – складна реакція з включенням емоційної складової). Робоча температура для вивчення антиноцицептивної активності складає 55 °С. Поведінка тварини реєструється з моменту поміщення на гарячу поверхню до появи поведінкової відповіді. Виразним показником анальгетичної активності є латентний час – час поведінкової реакції від поміщення тварини на поверхню пластинки до появи облизування лапок та виражається в секундах. Тест проводять протягом 30–60 секунд для мінімізації отримання опіків. Результати обчислюють за формулою:

$$AA = \frac{(T_d - T_k)}{T_k} * 100\%,$$

де AA – анальгетична активність,%; T_д – латентний період реакції на ноцицептивну стимуляцію після нанесення (введення) досліджуваної речовини; T_к – латентний період реакції на ноцицептивну стимуляцію контрольної групи тварин [3, 5].

Перевагами методу є валідність тесту навіть при моторних порушеннях та чутливість до слабких анальгетиків (наприклад, аспірину або парацетамолу). Недоліком методу є неадекватні реакції на седативні, психомиметики й міорелаксанти та неможливість більш частого проведення для попередження скорочення латентного періоду реакції.

Модель з використанням занурення хвоста в гарячу воду (Paw pressure test). Цей тест, використовуючи занурення хвоста, є одним з методів для визначення болю та ефективності знеболювальних препаратів у піддослідних тварин (здебільшого щурів). Методику проводять таким чином: лабораторну тварину поміщають у клітку так, щоб її хвіст вільно звисав, відмічають дистально 5 см хвоста щура і занурюють у чашку з гарячою водою (температура 55–56 °С) на

15 секунд. Це створює потенційно болучий подразник. Після занурення хвоста спостерігаються типові реакції, що включають відсування хвоста, спроби втечі, різкий рух хвоста, а іноді навіть відкидання всього тіла. Показником анальгетичної активності є час від поміщення у хвоста в гарячу воду до відтягування хвоста. Анальгетики центральної дії можуть подовжити час реакції відтягування хвоста, зробивши його довшим на 6 секунд. Це свідчить про знеболювальний ефект досліджуваного препарату. Існують модифікації цього тесту, такі як тест холодного хвоста і тест на холодний етанол, які використовують різні подразники для визначення болю та ефективності знеболювальних засобів [7, 15]. Перевагою є те, що цей тест відносно простий у відтворенні, може бути корисним для дослідження ефективності анальгетиків та вивчення реакції на біль в конкретній частині тіла (хвіст), що дає можливість аналізувати локальний біль. Недоліком методу є недостовірність результатів через реакції на біль, викликані різними факторами, такими як стрес, стан тварини, температурні зміни води, тест зазвичай проводять в обмеженому часовому інтервалі після введення препарату, що може не відображати тривалу анальгетичну активність.

2. Моделі з використанням електричних подразників

Електростимуляція хвоста (Electrical stimulation of the tail) слугує моделлю ноцицептивної реакції. Збудження ноцицептивних нейронів є основним механізмом, який викликає біль у цій моделі. Для електричного подразнення використовується апарат ЕСЛ-2 для генерації електричних імпульсів з певними параметрами (частота 100 Гц, тривалість 5 мсек, затримка 5 мсек). Поріг больової чутливості (ПБЧ) визначається як мінімальна напруга електричного струму, при якій тварина виявляє ноцицептивну реакцію, таку як вокалізація, імерсія хвоста, або відривання лапок від струмопровідної поверхні дна камери. Анальгетична активність оцінюється, порівнюючи вихідний показник ПБЧ до та через 1, 2, 4 і 6 годин після використання стимулювання. Перевагою методу є можливість відтворити ноцицептивну реакцію, дозволяє вивчати механізми болю та ефективність знеболювальних речовин на різних етапах ноцицептивної реакції. Недоліками моделі є те, що модель може бути менш специфічною в порівнянні з іншими моделями болю, оскільки вона використовує електричне подразнення, яке може створити неприродні стимули для болю, а також відтворює не всі аспекти болю, такі як запалення або такі як нейропатична біль [7].

Модель карагенін-індукованого набряку лап, як однієї з поширених методик оцінки протизапальних засобів не може бути використана для оцінки анальгетичної дії, не дивлячись на те, що карагенін вводиться ін'єкційно, він не викликає сильних больових відчуттів у тварин. А, ось модель формалін-індукованого набряку лап, може застосовуватися як для оцінки протизапальної, так і анальгетичної дії. Формаліновий тест застосовується для визначення анальгетичних властивостей експериментальних сполук при наявності запальної фази та оцінки первинної гіперальгезії. Незважаючи на те, що біль у формаліновому тесті можна визначити як «тонічний», а не як «хронічний», введення формаліну

в лапу тварини може спричинити ситуацію, ближчу до клінічної, ніж в умовах гострого подразнення [3].

Моделі скринінгу анальгетичних препаратів спрямовані на вивчення впливу досліджуваних речовин на больову поведінку тварин. Тест на гарячу пластинку, тест занурення хвоста в гарячу воду, електростимуляція – це все методи, які дозволяють вивчати реакцію тварин на біль і ефективність застосування анальгетичних засобів.

Ефективність досліджуваного препарату в різних моделях скринінгу проти-запальних засобів залежить від низки факторів, що змінюються в залежності від конкретного експерименту. Основними факторами, які можуть впливати на ефективність препаратів є: вага та загальний стан тварини, концентрація і фармакологічні властивості препарату, тип обраної моделі. Здоров'я та стан тварин можуть впливати на їхню реакцію на препарати. Тварини з хронічним запаленням (наприклад, формалін-індуковане запалення) можуть бути менш чутливими до препаратів, ніж тварини з гострим запаленням (карагенін-індуковане запалення). Тварини з більшою масою тіла мають більший виражений набряк лапи і при збільшенні концентрації флогогену (карагеніну, декстрану) також спостерігається збільшення набряку лапи. Фармакологічні властивості препарату, такі як його біодоступність, метаболізм та виведення також можуть впливати на його ефективність лікарського засобу. Різні моделі запалення можуть відрізнятися за своїми механізмами та проявами, це може призвести до того, що препарат, який є ефективним в одній моделі, виявиться неефективним в іншій. Наприклад, в моделі набряку, викликаного формаліном запалення викликається активацією нейтрофілів, що виділяють медіатори запалення, які викликають набряк. В цьому випадку, ефективними будуть лікарські препарати, які блокують активацію нейтрофілів. А, в моделі набряку, викликаного декстраном, запалення викликається накопиченням рідини в тканинах, тому ефективними лікарськими засобами є препарати, що блокують її накопичення. Якщо препарат, який блокує активацію нейтрофілів, буде випробуваний в моделі набряку, викликаного декстраном, він може виявитися неефективним.

Ефективність досліджуваних знеболювальних препаратів у різних експериментальних моделях може бути визначена рядом факторів, а саме температурою – в методі гарячої пластинки визначається температурою пластинки, яка спричиняє біль та дискомфорт тварині або в моделі занурення хвоста в гарячу воду, температурою гарячої води, яка пливає на інтенсивність болю та може визначати чутливість тварин до болісних подразників. Здатність препарату підтримувати анальгетичний ефект протягом певного періоду визначається часом утримання тварини на гарячій пластинці або хвоста в гарячій воді. В моделях, які використовують електричні подразники, ефективність досліджуваних препаратів визначається інтенсивністю стимуляції – важливо використовувати електростимуляцію з достатньою інтенсивністю, щоб викликати біль, але

не використовувати електростимуляцію з надмірною інтенсивністю, яка може призвести до пошкодження тканин.

Для більшої наочності в таблиці 1 представлено загальний огляд поширених моделей болю та запалення [6], включаючи флогогени/альгогени, основні медіатори болю/запалення, що беруть участь, а також референтні препарати, які частіше використовують в цих моделях.

Таблиця 1

**Моделі запалення та болю:
флогогени/альгогени, медіатори та референтні препарати**

Моделі запалення /болю	Флогогени/ Альгогени	Медіатори болю/ запалення	Референтні препарати
Карагенін-індукований набряк лап (Winter, Risley & Nuss (1962))	Карагенін	Простагландини (PGE2), цитокіни (TNF- α , IL-1 β), лейкотриєни	НПВП (нестероїдні протизапальні препарати), глюкокортикостероїди
Набряк лап, викликаний декстраном (McKinney & Lish (1966))	Декстран	Гістамін, серотонін	Глюкокортикостероїди, H1-блокатори гістаміну
Запалення, викликане формаліном (Dubuisson & Dennis (1977))	Формалін	Субстанція P, тахікініни, пептид зв'язаний з геном кальцітоніну (CGRP)	НПЗП і кортикостероїди
Запалення, викликане бавовняними кульками (Swingle and Shideman (1972))	Бавовняні кульки	Цитокіни (TNF- α , IL-1 β , IL-6), інтерлейкін-8 (IL-8)	Біологічні препарати, які блокують цитокіни (наприклад, інгібітори TNF- α)
Метод гарячої пластинки (Woolfe & Macdonald, (1944))	Гаряча пластина	Простагландини (PGE2), брадикинін	Антагоністи PGE2, антагоністи брадикиніну
Модель з використанням занурення хвоста в гарячу воду (Randall & Selitto (1957))	Гаряча вода	Нейропептид Y, субстанція P, серотонін	Антагоністи субстанції P, антагоністи CGRP.
Електростимуляція хвоста (O'Kelly L.I. & Steckle L. C. (1939))	Електричні стимулятори	Нейропептиди (субстанція P, CGRP), глутамат	Антагоністи субстанції P, антагоністи CGRP, антагоністи глутаматових рецепторів

Ця таблиця надає загальний огляд моделей болю та запалення, а також деякі референтні препарати, які можуть використовуватися для досліджень або лікування в цих моделях. В ній також наведено посилання на перші публікації, в яких описані методи відтворення запалення та болю. Ці публікації є класичними і мають важливе значення для розвитку цієї галузі досліджень, проте важливо враховувати, що вибір конкретних методів і препаратів може залежати від конкретних дослідницьких цілей та контексту самого експериментального дослідження.

Висновки

Пошук нових протизапальних та знеболювальних засобів є актуальною проблемою сьогодення та правильний вибір моделі скринінгу є ключовим етапом у розробці нових лікарських засобів.

Для адекватної оцінки протизапальних та анальгетичних властивостей досліджуваних сполук потрібно комбінація декількох фармакологічних тестів для виявлення переважних механізмів їх дії.

Особливу увагу слід приділяти вибору референтної сполуки для належної оцінки біологічного ефекту.

Результати цього дослідження сприятимуть розумінню та вдосконаленню методів скринінгу та сприятимуть розвитку більш ефективних та точних методів оцінки потенційних протизапальних і знеболювальних засобів в медичній та фармацевтичній практиці.

Стаття надійшла до редакції 29.10.2023

Список використаної літератури

1. Гладких Ф. В. Нестероїдні протизапальні засоби: терапевтичні та небажані ефекти, шляхи їх оптимізації. Вінниця: Твори, 2022. 216 с.
2. Патологія. Підручник в 2 т. Том 1. Загальна патологія / О. В. Атаман. Вінниця: Нова книга, 2017. 448 с.
3. Халімова О. І. Анальгетичні властивості похідних 3-заміщених 1,2-дигідро-3н-1,4-бенздіазепін-2-онів: дис ... канд. біол. наук: 14.03.05 «Фармакологія», Одеса, 2016. 158 с.
4. Хендель Н. В. Регламентція проведення експериментів над тваринами: міжнародні та національні правові стандарти. *Український часопис міжнародного права*. 2013. С. 71–76.
5. Якубовська В. В. Експериментальне дослідження протизапального та знеболюючого ефектів похідних (3-R-2-ОКСО-2Н-[1,2,4триазино [2,3-с] хіназолін-6-ІІ) алкілкарбонілових: автореф. дис ... канд. мед. наук: 14.03.05 «Фармакологія», Київ, 2018. 21 с.
6. Deuis J. R., Dvorakova L. S., Vetter I. Methods Used to Evaluate Pain Behaviors in Rodents. *Frontiers in Molecular Neuroscience*. 2017. Vol. 10. P. 284–300. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2017.00284>
7. Eze F. I., Uzor P. F., Peter I. E., Bonaventure C., Osadebe P. In vitro and In vivo Models for Anti-inflammation: An Evaluative Review. *INNOSC Therapeutics and Pharmacological Sciences*. 2019, Vol. 2(2). P. 3–15. <https://doi.org/10.36922/itps.v2i2.775>.
8. Hoffmann T., Klemm F., Kichko T., Sauer S. K., Kistner K., Riedl B., Raboisson P., Luo L., Babes A., Kocher L., Carli G., Fischer M. J. M., Reeh P. W. The formalin test does not probe inflammatory pain but excitotoxicity in rodent skin. *Physiological Reports*. 2022. Vol. 10(6). P. 1–21. <https://doi.org/10.14814/phy2.15194>.
9. Nicholas M., Vlaeyen J. W. S., Rief W., Barke A., Aziz Q., Benoliel R., Cohen M., Evers S., Giamberardino M. A., Goebel A., Korwisi B., Perrot S., Svensson P., Wang S. J., Treede R. D. The IASP Taskforce for the Classification of Chronic Pain. The IASP classification of chronic pain for ICD-11: chronic primary pain. *The Journal of Pain*. 2019. Vol. 160(1). P. 28–37. <https://doi.org/10.1097/j.pain.0000000000001390>.
10. Patil K. R., Mahajan U. B., Unger B. S., Goyal S. N., Belemkar S., Surana S. J., Ojha S., Patil C. R.. Animal Models of Inflammation for Screening of Anti-inflammatory Drugs: Implications for the Discovery and Development of Phytopharmaceuticals. *International Journal of Molecular Sciences*. 2019. Vol. 20(18). P. 43–67. <https://doi.org/10.3390/ijms20184367>.
11. Roe K. An inflammation classification system using cytokine parameters. *Scandinavian Journal of Immunology*. 2021. Vol. 93(2). P. 12–17. <https://doi.org/10.1111/sji.12970>.
12. Sarkhel S. Evaluation of the anti-inflammatory activities of Quillaja saponaria Mol. saponin extract in mice. *Toxicology Reports*. 2016. Vol. 3. P. 1–3. <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2015.11.006>.
13. Stewart A. G., Beart P. M. Inflammation: maladies, models, mechanisms and molecules. *British Journal Pharmacology*. 2016. Vol. 173(4). P. 631–634. <https://doi.org/10.1111/bph.13389>.

14. Wang Y., Li G.H., Liu X.Y., Xu L., Wang S.S., Zhang X.M. *In vivo* anti-inflammatory effects of taraxasterol against animal models. *African Journal Traditional Complement and Alternative Medicines*. 2016. Vol. 14(1). P. 43–51. <https://doi.org/10.21010/ajtcam.v14i1.6>.
15. Zhou Q., Bao Y., Zhang X., Zeng L., Wang L., Wang J., Jiang W. Optimal interval for hot water immersion tail-flick test in rats. *Acta Neuropsychiatrica*. 2014. Vol. 26(4). P. 218–222. <https://doi.org/10.1017/neu.2013.57>.

Ю. О. Молодан¹, В. Б. Ларіонов², І. Ю. Борисюк³, О. А. Макаренко¹

¹ Одеський національний університет імені І. І. Мечникова, кафедра фізіології, здоров'я і безпеки людини та природничої освіти, Одеса, вул. Дворянська, 2, 65082, Україна, e-mail: yuliabonbonka@gmail.com

² Фізико-хімічний інститут ім. О. В. Богатського НАН України, лабораторія молекулярної фармакології та медицини, Одеса, вул. Люстдорфська дорога, 86, 65080, Україна

³ Міжнародний гуманітарний університет, кафедра загальної та клінічної фармакології, Одеса, вул. Фонтанська дорога, 23а, 65016, Україна

ТВАРИННІ МОДЕЛІ *IN VIVO* ДЛЯ СКРИНІНГУ ПОТЕНЦІЙНИХ ПРОТИЗАПАЛЬНИХ ТА ЗНЕБОЛЮВАЛЬНИХ ЗАСОБІВ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

Резюме

Актуальність. Біль та запалення є важливими компонентами багатьох захворювань, включаючи ревматоїдний артрит, остеоартрит, артрози, алергічні захворювання, інфекції та рак. Для виявлення потенційних протизапальних та знеболювальних засобів розроблено ряд тваринних моделей *in vivo*, що дозволяють імітувати різні аспекти запалення та болю, що може бути корисними для оцінки ефективності та безпеки нових терапевтичних засобів.

Мета. Систематичний аналіз та узагальнення даних щодо використання тваринних моделей *in vivo* для скринінгу потенційних протизапальних та знеболюючих засобів.

Методика. Для підготовки цього огляду літератури була проведена систематична пошукова робота в базах даних PubMed, Google Scholar та інших наукових джерел, з використанням ключових слів: «animal models», «screening», «anti-inflammatory», «analgesic», враховуючи публікації, опубліковані з 2013 по 2023 рік.

Основні результати. Аналіз літератури показав, що використання тваринних моделей *in vivo* для скринінгу протизапальних та знеболюючих засобів є важливим напрямком досліджень. У огляді представлені найбільш поширені моделі, що використовуються для скринінгу протизапальних (карагенін-індукований набряк лап, декстран-індукований набряк лап, формалін-індукований набряк лап, гранульома, викликана бавовняними кульками) та знеболювальних засобів (метод гарячої пластинки, занурення хвоста в гарячу воду, електростимуляція хвоста). Дані з таких досліджень допомагають встановити потенційні протизапальні та знеболюючі властивості різних сполук і визначити їх механізми дії.

Висновки. Використання тваринних моделей *in vivo* є важливим інструментом для скринінгу потенційних протизапальних та знеболювальних засобів.

Ці моделі дозволяють проводити більш об'єктивні та репрезентативні дослідження, що допомагає в розробці нових лікарських препаратів. Дані огляду літератури слугують важливою основою для подальших досліджень у цьому напрямку.

Ключові слова: анальгетична дія; протизапальна дія; моделі *in vivo*

Yu. O. Molodan¹, V. B. Larionov², I. Yu. Borysiuk³, O. A. Makarenko¹

¹ Odesa I. I. Mechnikov National University, Department of Physiology, Human Health and Safety and Natural Science Education, 2 Dvorianska Str., Odesa, 65082, Ukraine, e-mail: yuliabonbonka@gmail.com

² A. V. Bogatsky Physico-Chemical Institute of NAS of Ukraine, Laboratory of molecular pharmacology and medicine, Odesa, Lustdorfskaya doroga, 86, 65080, Ukraine

³ International Humanitarian University, The Department of General and Clinical Pharmacology, Odessa, Fontanskaya road, 23a, 65016, Ukraine

IN VIVO ANIMAL MODELS FOR SCREENING POTENTIAL ANTI-INFLAMMATORY AND ANALGESIC AGENTS (LITERATURE REVIEW)

Summary

Introduction. Pain and inflammation are components of many diseases, including rheumatoid arthritis, osteoarthritis, osteoarthritis, allergic diseases, infections and cancer. To identify existing anti-inflammatory and analgesic agents, a number of *in vivo* animal models have been developed to simulate various aspects of effect and pain, which may be useful for evaluating the efficacy and safety of new therapeutic agents.

Aims. Systematic analysis and generalization of data on the use of *in vivo* animal models for screening of identified anti-inflammatory and analgesic agents.

Methods. To prepare this literature review, a systematic search was conducted in the databases of PubMed, Google Scholar and other scientific sources, using the keywords: «animal models», «screening», «anti-inflammatory», «analgesic», taking into account publications published 2013 to 2023 year.

The main results. The analysis of the literature showed that the use of *in vivo* animal models for the screening of anti-inflammatory and analgesic agents is a direction of research. The review presents the most advanced models used to screen anti-inflammatory (carrageenan-induced paw wall, dextran-induced paw wall, formalin-induced paw wall, cotton ball-induced granuloma) and analgesic agents (hot plate method, hot tail immersion, electrostimulation of the tail). Data from such studies help establish the respective anti-inflammatory and analgesic properties of various compounds and establish their mechanisms of action.

Conclusions. The use of *in vivo* animal models is a tool for screening negative anti-inflammatory and analgesic agents. These models do not allow conducting more objective and representative studies that help in the development of new medicines. These literature reviews serve as an important basis for further research in this direction.

Key words: analgesic action; anti-inflammatory action; *in vivo* models

References

- Hladkykh, F. V. (2022). *Nesteroyidni protyzapal'ni zasoby: terapevtychni ta nebazhani efekty, shlyakhy yikh optymizatsiyi* [Non-steroidal anti-inflammatory drugs: therapeutic and adverse effects, ways to optimize them]. Vinnytsia: Tvory, 216 p. [in Ukrainian].
- Ataman, O. V. (2017). *Patofiziolojiya. Pidruchnyk v 2 t. Tom 1. Zahal'na patofiziolojiya* [Pathophysiology. Textbook in 2 volumes. Volume 1. General pathophysiology]. Vinnytsia: Nova knyha, 520 p. [in Ukrainian].
- Khalimova, O. I. (2016). *Anal'hetychni vlastyvoli pokhidnykh 3-zamishchenykh 1,2-dyhydro-3n-1,4-benzodiazepin-2-oniv* [Analgesic properties of derivatives of 3-substituted 1,2-dihydro-3n-1,4-benzodiazepin-2-ones] (Dis ... kand. biol. nauk [Candidate's thesis in biological sciences], 158 p., Odesa. [in Ukrainian].
- Handel, N. V. (2013). *Rehlementatsiya provedennya eksperymentiv nad tvarynamy: mizhnarodni ta natsionalni pravovi standart* [Regulation of experiments on animals: international and national legal standards]. *Ukrayins'kyi chasopys mizhnarodnoho prava*. 71–76.
- Yakubovsky, V. V. (2018). *Eksperymentalne doslidzhennya protyzapal'nogo ta znebolyuyuchoho efektyv pokhidnykh (3-R-2-OKSO-2H-[1,2,4]triazyno [2,3-c] khinazolin-6-IL) alkylkarbonovykh* [Experimental study of the anti-inflammatory and analgesic effects of derivatives (3-R-2-oxo-2H-[1,2,4]triazino[2,3-c]quinazolin-6-IL) of alkylcarboxylic acids]: (Avtoref. dis ... kand. med. nauk [14.03.05 «Pharmacology»]), 21 p., Kyiv. [in Ukrainian].
- Deuis, J. R., Dvorakova, L. S., & Vetter, I. (2017). Methods Used to Evaluate Pain Behaviors in Rodents. *Frontiers in molecular neuroscience*. 10, 284–300. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2017.00284>
- Eze, F. I., Uzor, P. F., Peter, I. E., Bonaventure, C., & Osadebe, P. (2019). In vitro and in vivo models for anti-inflammation: an evaluative review. *INNOSC Theranostics and Pharmacological Sciences*. 2(2), 3–15. <https://doi.org/10.36922/itps.v2i2.775>
- Hoffmann, T., Klemm, F., Kichko, T. I., Sauer, S. K., Kistner, K., Riedl, B., Raboisson, P., Luo, L., Babes, A., Kocher, L., Carli, G., Fischer, M. J. M., & Reeh, P. W. (2022). The formalin test does not probe inflammatory pain but excitotoxicity in rodent skin. *Physiological Reports*. 10(6), 1–21. <https://doi.org/10.14814/phy2.15194>
- Nicholas, M., Vlaeyen, J. W. S., Rief, W., Barke, A., Aziz, Q., Benoliel, R., Cohen, M., Evers, S., Giamberardino, M. A., Goebel, A., Korwisi, B., Perrot, S., Svensson, P., Wang, S. J., Treede, R. D., & IASP Taskforce for the Classification of Chronic Pain (2019). The IASP classification of chronic pain for ICD-11: chronic primary pain. *The Journal of Pain* 160(1), 28–37. <https://doi.org/10.1097/j.pain.0000000000001390>
- Patil, K. R., Mahajan, U. B., Unger, B. S., Goyal, S. N., Belemkar, S., Surana, S. J., Ojha, S., & Patil, C. R. (2019). Animal Models of Inflammation for Screening of Anti-inflammatory Drugs: Implications for the Discovery and Development of Phytopharmaceuticals. *International Journal of Molecular Sciences*. 20(18), 4367. <https://doi.org/10.3390/ijms20184367>
- Roe, K. (2021). An inflammation classification system using cytokine parameters. *Scandinavian Journal of Immunology*, 93(2), e12970. <https://doi.org/10.1111/sji.12970>
- Sarkhel, S. (2016). Evaluation of the anti-inflammatory activities of Quillaja saponaria Mol. saponin extract in mice. *Toxicology Reports*. 3, 1–3. <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2015.11.006>
- Stewart, A. G., & Beart, P. M. (2016). Inflammation: maladies, models, mechanisms and molecules. *British Journal Pharmacology*. 173(4), 631–634. <https://doi.org/10.1111/bph.13389>
- Wang, Y., Li, G. H., Liu, X. Y., Xu, L., Wang, S. S., & Zhang, X. M. (2016). *In vivo* anti-inflammatory effects of taraxasterol against animal models. *African Journal Traditional Complement and Alternative Medicines*. 14(1), 43–51. <https://doi.org/10.21010/ajteam.v14i1.6>
- Zhou, Q., Bao, Y., Zhang, X., Zeng, L., Wang, L., Wang J., & Jiang, W. (2014). Optimal interval for hot water immersion tail-flick test in rats. *Acta Neuropsychiatrica*. 26(4), 218–222. <https://doi.org/10.1017/neu.2013.57>