

РЕЗЮМЕ

на изследователски проект № 80-10-4/2021 г., МФ
Фонд „Научни изследвания“, СУ „Св. Кл. Охридски“

Тема на проекта: „Участие на опиоидната система в антиноцицептивните ефекти на новосинтезирани RGD VV-хеморфин-7 аналози“

Ръководител: проф. Елена Борисова Джамбазова, дм

Членове на научния колектив: доц. д-р Даниела Пехливанова, гл. ас. д-р Борислав Асенов, студент Теодор Славчев, студент Димитър Дончев, студент Филипос Хелмис

Настоящият проект продължи започнати с предишен проект към ФНИ на СУ (80-10-2/2020) изследвания върху хеморфинови аналози. Хеморфините са един сравнително нов клас ендогенни “атипични” опиоидни пептиди. Те са късоверижни, получени чрез ензимна хидролиза на освободения в кръвта хемоглобин по време на физиологични или патофизиологични състояния. Идентифицирани са физиологично активни хеморфини с различен аминокиселинен състав и дължина на молекулата, включително LVV-H-7 и VV-H-7 (VV-H-7), локализирани в главния и гръбначния мозък, цереброспиналната течност и кръвната плазма. Болката е сред най-често съобщаваните здравни проблеми в клиничната практика, затова разработването на нови групи аналгетични средства винаги е представлявало интерес за фармацевтичната индустрия. Една от **приоритетните** области за изследвания в невробиологичните и медицински науки е изясняването на функционалната роля на ендогенните късоверижни пептиди с потенциално противоболково действие. В нашите предходни изследвания доказахме, че два новосинтезирани аналози на хеморфин VV-H-7, съдържащи аргинил-глицил-аспаргинова киселина (RGD) фрагмент – RGD₁ и RGD₂, имат изразени антиноцицептивни ефекти както при остра, така и възпалителна болка. В достъпната ни литература не открихме данни за механизмите, лежащи в основата на тези ефекти, затова си поставихме за **цел** да проучим участието на опиоидната система в антиноцицептивните ефекти на новосинтезираните RGD аналози, като използваме селективни антагонисти на опиоидните рецептори – μ , δ , κ . Известно е, че ендогенната опиоидна система участва не само в контрола на аналгезията. Широкото разпространение на опиоидните рецептори и опиоидните агонисти в централната и периферната нервна система, в храносмилателната и имунната система, обуславят нейната роля като важен модулатор на жизненоважни адаптационни процеси в човешкия организъм. Тя поддържа физиологичното равновесие в нервните и хуморални отговори при болка и стрес посредством опиоидни пептиди.

Като скринингов тест, за изследване на остра и възпалителна болка на новосинтезирани субстанции, бе използван **формалинов тест**. Интраплантарното подкожно инжектиране на формалин (10 μ l, 5% formalin) в задната лапа на мишки е широко използван метод за определяне чувствителността към остра болка през първата фаза на теста (0-20 минути след инжектиране на дразнителя) и към възпалителна болка през втората фаза (20-40 минута). За да бъде изследвана ролята на опиоидната система върху антиноцицептивното действие на определените ефективни дози от трите изследвани пептида: VV-H-7 (10 μ g, i.c.v.); RGD₁ (5 μ g, i.c.v.) и RGD₂ (2,5 μ g, i.c.v.) използвахме следните селективни антагонисти на опиоидните рецептори, разтворени в стерилен физиологичен разтвор и приложени интраперитонеално (i.p.) 15 минути преди инфузията на пептида: Налоксон хидрохлорид (Nal, 5 mg/kg) за трите вида опиоидни рецептори – μ , δ , κ ; Налтриндол хидрохлорид (Naltr, 5 mg/kg) – за δ рецепторите; Нор-Биналторфимин дихидрохлорид (norBNI, 1 mg/kg) – κ рецепторите. Всеки от изследваните пептиди беше разтворен в изкуствена цереброспинална течност (aCSF) и беше инжектиран интрацеребро-вентрикуларно (i.c.v.) в дози 10 μ g, 5 μ g и 2,5 μ g/5 μ l/мишка, 5 минути преди интраплантарно (i.pl.) инжектиране на болковия дразнител – 5% формалин (10 μ l) в задната дясна лапа. Инжектирането се провеждаше на ненаркотизирани животни съгласно метода на Haley & McCormic (1957). След формалиновия тест, животните бяха декапитирани, изолирана бе кръвна плазма и плазмените нива на тумор некротизиращ фактор алфа (TNF- α) бяха определени чрез ELISA метод по протокол на производителя.

Статистическата обработка беше извършена с one-way ANOVA (фактор доза с три нива) и пост-тест Bonferroni. Получените данни бяха представени като средни стойности \pm SEM. $P < 0.05$ се приема за статистически значимо.

Експерименталните данни показаха, че VV H7 и неговите аналози RGD1 и RGD2 имат ясно изразени противоболкови ефекти при формалинов тест у мишки. В механизмите на тези ефекти участва опиоидната система, но са въввлечени различни рецептори. VV-H-7 влияе на болковата трансмисия чрез μ -, δ - и κ - опиоидните рецептори, като по време на острата болка или първата фаза на теста, ефект имат предимно δ рецепторите, а по време на 2та фаза (възпалителна болка) – μ - и κ - рецепторите.

Опиоидната система участва в противоболковите ефекти на RGD1, но само при остра болка, и в механизма на тези ефекти участват δ - и κ -рецепторите. Опиоидната система участва и в противоболковите ефекти на RGD2, като по време на острата и възпалителна болка, ефект имат само μ -рецепторите. Серумната концентрация на TNF- α след въвеждане на блокерите на опиоидните рецептори бе значително повишена.