
КЛЕТОЧНАЯ БИОЛОГИЯ И ФИЗИОЛОГИЯ

CELL BIOLOGY AND PHYSIOLOGY

УДК 547.327:547.295.9:612.884

ОЦЕНКА АНТИНОЦИЦЕПТИВНОГО ДЕЙСТВИЯ АМИДОВ ЖИРНЫХ КИСЛОТ ПРИ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ БЛОКАДЕ РЕЦЕПТОРОВ PPAR α В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ НЕЙРОПАТИИ

А. С. ДОРОНЬКИНА¹⁾, И. П. ЖАВОРОНОК¹⁾, А. Л. МИХАЛЬЧУК²⁾, В. Г. БОГДАН³⁾

¹⁾Институт физиологии НАН Беларуси,

ул. Академическая, 28, 220072, г. Минск, Беларусь

²⁾Институт биоорганической химии НАН Беларуси,

ул. Академика Купревича, 5, корп. 2, 220084, г. Минск, Беларусь

³⁾Национальная академия наук Беларуси,

пр. Независимости, 66, 220072, г. Минск, Беларусь

Изучено влияние амидов жирных кислот в условиях блокады ядерных рецепторов PPAR α на ноцицептивную чувствительность и параметры походки у крыс в норме и при экспериментальной периферической нейропатии. Установлено, что у животных с лигированием седалищного нерва введение амидов жирных кислот на фоне блокады

Образец цитирования:

Доронькина АС, Жаворонок ИП, Михальчук АЛ, Богдан ВГ. Оценка антиноцицептивного действия амидов жирных кислот при фармакологической блокаде рецепторов PPAR α в условиях экспериментальной периферической нейропатии. *Экспериментальная биология и биотехнология*. 2023;2:30–43. EDN: VETILJ

For citation:

Doronkina AS, Zhavoronok IP, Mikhal'chuk AL, Bogdan VG. Assessment of antinociceptive actions of fatty acid amides in pharacological blockade of PPAR α receptors in experimental peripheral neuropathy. *Experimental Biology and Biotechnology*. 2023;2:30–43. Russian. EDN: VETILJ

Авторы:

Анастасия Сергеевна Доронькина – младший научный сотрудник лаборатории биологического моделирования.

Ирина Петровна Жаворонок – кандидат биологических наук; заведующий лабораторией биологического моделирования.

Александр Леонидович Михальчук – кандидат химических наук; ведущий научный сотрудник, исполняющий обязанности заведующего лабораторией химии липидов.

Василий Генрихович Богдан – доктор медицинских наук, профессор; академик-секретарь Отделения медицинских наук.

Authors:

Anastasya S. Doronkina, junior researcher at the laboratory of biological modelling.

doronkina_nastasya1995@mail.ru

<https://orcid.org/0000-0001-8914-5166>

Irina P. Zhavoronok, PhD (biology); head of the laboratory of biological modelling.

iri8308@yandex.ru

<https://orcid.org/0000-0001-9982-0719>

Alexander L. Mikhal'chuk, PhD (chemistry); leading researcher and acting head of the laboratory of lipid chemistry.

lipmal@iboch.by

<https://orcid.org/0000-0003-4344-4616>

Vasily G. Bogdan, doctor of science (medicine), full professor; academician-secretary at the Department of Medical Sciences.

medic@presidium.bas-net.by

<https://orcid.org/0000-0003-4344-4616>

рецепторов PPAR α приводит к достоверному снижению выраженности ноцицептивной реакции на механический и термический стимулы. При регистрации паттернов походки отмечено увеличение интенсивности и площади отпечатка, а также скорости переноса конечности.

Ключевые слова: пальмитоилэтаноламид; стеароилэтаноламид; пальмитоилглицинамид; паттерны походки; ноцицепция; нейропатия; анальгетический эффект; амиды жирных кислот; ядерные рецепторы.

ASSESSMENT OF ANTINOCICEPTIVE ACTIONS OF FATTY ACID AMIDES IN PHARMACOLOGICAL BLOCKADE OF PPAR α RECEPTORS IN EXPERIMENTAL PERIPHERAL NEUROPATHY

A. S. DORONKINA^a, I. P. ZHAVORONOK^a, A. L. MIKHAL'CHUK^b, V. G. BOGDAN^c

^a*Institute of Physiology, National Academy of Sciences of Belarus,
28 Akademichnaja Street, Minsk 220072, Belarus*

^b*Institute of Bioorganic Chemistry, National Academy of Sciences of Belarus,
5 Akademika Kuprevicha Street, 2 building, Minsk 220084, Belarus*

^c*National Academy of Sciences of Belarus,
66 Niezaliezhnasci Avenue, Minsk 220072, Belarus*

Corresponding author: A. S. Doronkina (doronkina_nastasya1995@mail.ru)

The effect of fatty acid amides during the blockade of PPAR α nuclear receptors on nociceptive sensitivity and gait parameters in rats with normal and experimental peripheral neuropathy was studied. It was found that in rats with ligation of the sciatic nerve, the introduction of fatty acid amides against the background of PPAR α receptor blockade led to a significant decrease in the severity of the nociceptive response to mechanical and thermal stimuli. When registering gait patterns, an increase in the intensity and area of the limb imprint, as well as in limb transfer rate was noted.

Keywords: palmitoylethanolamide; stearoylethanolamide; palmitoylglucosylamide; gait patterns; nociception; neuropathy; analgesic effect; fatty acid amides; nuclear receptors.

Введение

От нейропатической боли страдает около 10 % населения земного шара, и ежегодно количество пациентов с этим недугом увеличивается. Нейропатия – патология нервной системы, которая возникает на фоне поражения периферических нервов вследствие компрессии или травмы. Наиболее распространенными причинами периферической нейропатии являются сахарный диабет, онкологические заболевания и химиотерапия, токсические поражения, герпетическая инфекция, травмы и др. [1]. Хроническая боль существенно ухудшает качество жизни пациентов вплоть до развития психических расстройств, таких как депрессия. Сложности при лечении пациентов с нейропатической болью обусловлены неоднородностью ее этиологии, симптомов и основных механизмов возникновения. К сожалению, нейропатическая боль обычно трудно поддается лечению с помощью существующих терапевтических средств. Стандартная фармакотерапия данной патологии включает антидепрессанты (трициклические антидепрессанты, селективные ингибиторы обратного захвата серотонина и норадреналина), противоэпилептические (противосудорожные) препараты, опиоидные анальгетики и местные анестетики, которые ингибируют обратный захват биогенных аминов серотонина, норадреналина и гамма-аминомасляной кислоты, что, в свою очередь, снижает болевую чувствительность. Применение всех этих средств, помимо потенциальных преимуществ, сопряжено с риском развития различных побочных эффектов, среди которых – атаксия, нарушение концентрации внимания, ухудшение памяти, тремор, дизартрия, парестезия, спутанность сознания, синдром беспокойных ног, тахикардия и др. Однако более важно то, что перечисленные лекарственные препараты оказывают лишь симптоматическое действие, но не устраняют причину болевых ощущений. Вследствие этого актуальной задачей выступает поиск путей патогенетического лечения нейропатии и связанных с ней болевых синдромов, которые были бы эффективны и в то же время характеризовались отсутствием побочных эффектов [2; 3].

Одним из трендов медико-биологических исследований последних лет являются исследования в области физиологии и биохимии липидных аутокоидов – амидов жирных кислот (*fatty acid amides*, FAAs). Эта весьма обширная, непрерывно обновляющаяся и пополняющаяся группа биогенных веществ к настоящему времени насчитывает сотни представителей. Амиды жирных кислот (эндогенные этаноламиды и амиды с аминокислотами) являются естественными регуляторами гомеостаза живых организмов (от протобактерий

до человека) в норме и при патологии и рассматриваются в качестве основы препаратов, способствующих поддержанию здоровья, ускоряющих выздоровление и улучшающих качество жизни [2; 4; 5]. Кроме того, FAAs считаются потенциальными фармакологическими агентами модуляции активности мембранных рецепторов, сопряженных с G-белком орфанных рецепторов GPR18, GPR55, ядерных рецепторов PPARs, каннабиноидных рецепторов CBR1, CBR2 и ванилоидных рецепторов TRPV1 [6; 7].

В свою очередь, PPARs (рецепторы, активируемые пероксисомным пролифератором) входят в семейство факторов транскрипции ядерных гормонов и выступают важными модуляторами боли, а следовательно, потенциальной терапевтической мишенью для ее купирования. В более ранних исследованиях сообщалось о нацеливании рецепторов PPAR α на периферическую нейропатию с помощью экзогенных агонистов, таких как фенофибрат. Однако их потенциал в качестве мишени для антиноцицептивного действия эндогенных этаноламидов не изучался [8; 9].

В связи с этим настоящее исследование было направлено на анализ антиноцицептивного действия наиболее изученных FAAs, а именно пальмитоилэтаноламида (*palmitoylethanolamide*, PEA), стеароилэтаноламида (*stearoylethanolamide*, SEA) и пальмитоилглицинамида (*palmitoylglycinamide*, PGlyA), на фоне фармакологической блокады рецепторов PPAR α у здоровых животных, а также у животных с экспериментальной периферической нейропатией.

Цель работы – изучить влияние FAAs при блокаде ядерных рецепторов PPAR α на ноцицептивную чувствительность и параметры походки у крыс с периферической нейропатией.

Материалы и методы исследования

Лабораторные животные. Экспериментальные исследования выполнены на 93 крысах-самцах линии Wistar массой 200–220 г, содержащихся в условиях вивария Института физиологии НАН Беларуси при температуре (22 ± 1) °C и цикле освещения 12 ч день и 12 ч ночь с доступом к воде и пище *ad libitum*. Серии экспериментов выполняли в утреннее время. Все манипуляции с лабораторными животными проводили с соблюдением законодательства¹ и принципов биоэтики в соответствии с положениями Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (Страсбург, 1986). Протоколы экспериментов одобрены комиссией по биоэтике при Институте физиологии НАН Беларуси (протокол № 1 от 2 февраля 2022 г.).

Исследуемые вещества. Объектом исследования выступали FAAs (PEA, SEA, PGlyA), синтезированные в лаборатории химии липидов Института биоорганической химии НАН Беларуси, а также GW6471 – антагонист ядерных рецепторов PPAR α (*Cayman Chemical*, США). Поскольку и FAAs, и GW6471 являются труднорастворимыми соединениями, то для их введения использовали комплексный растворитель, содержащий Tween-80 (*Sigma-Aldrich*, США), этанол и апирогенный физиологический раствор в соотношении 1 : 1 : 8. Сначала осуществляли внутрибрюшинное введение GW6471 в дозе 1 мг/кг в 1 мл растворителя, а через 10 мин – внутрибрюшинное введение одного из FAAs (PEA, SEA, PGlyA) в дозе 1,5 мг/кг в 1 мл растворителя.

В исследовании крыс разделили на следующие группы:

- здоровые животные + растворитель (контроль 1) ($n = 7$);
- здоровые животные + GW6471 ($n = 7$);
- нейропатия без лечения (контроль 2) ($n = 10$);
- ложнооперированные животные (контроль 3) ($n = 7$);
- нейропатия + растворитель (контроль 4) ($n = 7$);
- нейропатия + PEA ($n = 10$);
- нейропатия + SEA ($n = 10$);
- нейропатия + PGlyA ($n = 7$);
- нейропатия + GW6471 ($n = 7$);
- нейропатия + GW6471 + PEA ($n = 7$);
- нейропатия + GW6471 + SEA ($n = 7$);
- нейропатия + GW6471 + PGlyA ($n = 7$).

Моделирование периферической нейропатии. Моделирование данной патологии осуществляли хирургическим путем в асептических условиях. Все хирургические манипуляции проводили под общей анестезией (внутривенное введение тиопентала натрия (ОАО «Синтез», Россия), растворенного в апирогенном физиологическом растворе, в дозе 20 мг/кг). Для местной анестезии использовали 1 % раствор лидокаина гидрохлорида (ОАО «Борисовский завод медицинских препаратов», Беларусь) в расчете 30–40 мкл на

¹Об утверждении Ветеринарно-санитарных правил по приему, уходу и вскрытию подопытных животных в вивариях научно-исследовательских институтов, станциях, лабораториях, учебных заведениях, а также в питомниках [Электронный ресурс] : постановление М-ва сел. хоз-ва и продовольствия Респ. Беларусь, 21 мая 2010 г., № 36. URL: <https://pravo.by/document/?guid=3961&p0=W210p0118> (дата обращения: 22.09.2022).

крысу. После наркотизации тиопенталом натрия крыс фиксировали в положении лежа на правом боку, выбривали шерсть в области бедра и голени животного и обрабатывали подготовленное поле 5 % спиртовым раствором йода. В проекции прохождения седалищного нерва с наружной стороны бедра выполняли разрез кожи длиной 1 см, раздвигали мышечный слой пинцетом, минимально травмируя мышечные волокна, находили седалищный нерв и накладывали на него три лигатуры на расстоянии 1 мм друг от друга с использованием нити «Сургикрол» (USP 3/0) (ООО «Футберг», Беларусь). Кожу сшивали непрерывным матрачным швом. Готовый шов обрабатывали 1 % раствором бриллиантового зеленого (РУП «Белмед-препараты», Беларусь). Ложнооперированным животным производили только разрез кожи и раздвигали мышцы без лигирования нервных волокон с последующим ушиванием краев раны. Для предупреждения инфицирования крысам подкожно вводили растворенный в воде для инъекций антибиотик «Цефтриаксон» (ОАО «Борисовский завод медицинских препаратов») в дозе 200 мг/кг. До полного пробуждения от наркоза животные находились под постоянным визуальным контролем в индивидуальных боксах [10].

Определение латентного периода ноцицептивной реакции (ЛПНР) (в секундах) проводили с использованием альгезиметра Hot Plate (*Panlab*, Испания). Животных помещали на поверхность металлической пластины альгезиметра, нагретую до 50 °С. Затем с помощью встроенного таймера регистрировали время с момента помещения животного на пластину до момента лизания задней конечности, вокализации либо попытки выпрыгнуть [11].

Для определения порога ноцицептивной реакции (ПНР) (в граммах) применяли тест Рэндалла – Селитто (тест «давление на лапу»), предполагающий измерение силы надавливания пластикового остроконечного конуса на стопу экспериментального животного, при которой отмечается специфическая болевая реакция (отдергивание лапы либо вокализация). Тест проводили поочередно на обеих задних лапах для каждого животного с использованием аппарата фирмы *Panlab* [12].

Измерение параметров походки крыс выполняли с помощью аппаратно-программного комплекса CatWalk XT (*Noldus*, Нидерланды). Данный комплекс состоит из закрытого коридора на стеклянной пластине, по которому крыса перемещается с одной стороны на другую. Зеленый свет, излучаемый внутри коридора, полностью отражается от пластины, за исключением тех мест, где лапа животного соприкасается со стеклом и, как следствие, свет рассеивается [13]. Под стеклянной пластиной была установлена высокоскоростная камера для записи пробега животных. Эксперимент проводился в затемненной и защищенной от шума комнате. Программное обеспечение комплекса CatWalk XT автоматически регистрировало отпечатки лап, когда животное пересекало откалиброванный участок коридора размером 20 × 10 см.

Аналізу подвергались следующие данные, полученные с использованием комплекса CatWalk XT: площадь отпечатка (в квадратных сантиметрах), скорость переноса конечности (в сантиметрах в секунду), интенсивность отпечатка (в абсолютных единицах измерения). Другие показатели, такие как ширина и длина отпечатка (в сантиметрах), продолжительность фазы стойки (в секундах), статистически значимо не изменялись и поэтому не были включены в исследование [13].

Интенсивность 3D-отпечатка показывает интенсивность отпечатка для каждого кадра, в котором лапы соприкасаются со стеклянной пластиной, и варьирует от 0 до 225, т. е. представлена в промежутке от синего до красного цвета.

Пробег считался удачным, когда крыса входила в коридор и плавно перемещалась по пластине к выходу на другом конце коридора, при этом продолжительность пробега была менее 5 с, а максимальное отклонение составляло менее 75 %. Для каждого животного были зарегистрированы три таких пробега [13].

Измерения производили до моделирования нейропатии, а также на 7, 14, 21, 30, 60-е сутки после моделирования патологии трехкратно через 5–7 мин с последующим усреднением индивидуальных показателей.

Для большей графической наглядности значений показателей ноцицептивной чувствительности и параметров походки данные представлены в процентах от фонового значения, принятого за 100 %.

Анализ полученных данных. Статистическую и графическую обработку результатов выполняли с помощью пакетов программ *OriginPro 9.1* (*OriginLab Corporation*, США) и *Statistica 10.0* (*StatSoft*, Россия). Проверку гипотезы о нормальном распределении количественных показателей осуществляли по критерию Шапиро – Уилка. Статистическую значимость количественных признаков определяли с помощью непараметрических тестов, а именно теста Уилкоксона для зависимых выборок и теста Манна – Уитни для независимых выборок в парных сравнениях. Данные представлены в виде медианы и интервального размаха с указанием 25-го и 75-го процентилей. Для анализа взаимосвязи двух количественных показателей использовали метод ранговой корреляции Спирмена. В процессе обработки данных уровень статистической значимости оценивали при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение

Болевая чувствительность и паттерны походки в условиях экспериментальной нейропатии. На протяжении исследования состояние лабораторных животных было в пределах нормы: не выявлено патологических выделений и изменений шерстяного покрова, слизистых оболочек, а также отмечена

положительная динамика массы тела. Экспериментальные животные, которым моделировали периферическую нейропатию, прихрамывали, подтягивая травмированную лапу, однако при этом их общее состояние не отличалось от состояния здоровых животных.

Лигирование седалищного нерва у крыс контрольной группы приводило к развитию механической гипералгезии на 4-е сутки после операции, что выражалось в снижении ПНР ипсилатеральной (травмированной) конечности на 21,6 % (с 127,5 (123,0–130,8) до 97,0 (94,3–101,0) г; $p = 0,007$) по сравнению с его значением до моделирования патологии. На 7-е сутки данный показатель уменьшился на 29,3 % (до 90,0 (87,0–93,0) г; $p = 0,0002$) относительно исходных значений. В то же время при проведении соответствующего теста на контралатеральной (неповрежденной) конечности, равно как и на обеих задних конечностях в группе ложнооперированных животных, подобного эффекта не обнаружено ($p > 0,05$).

При исследовании ноцицептивной реакции на термический стимул у животных с периферической нейропатией наблюдалось статистически значимое снижение ЛПНР на 34,5 % (с 20,4 (18,8–21,4) до 13,6 (11,9–14,7) с; $p = 0,005$) по сравнению с данными до операции. Механическая и термическая гипералгезия сохранялась по 60-е сутки ($p < 0,05$).

В ходе оценки изменений параметров походки с использованием аппаратно-программного комплекса CatWalk XT у животных с травмой седалищного нерва на 7-е сутки после операции отмечено уменьшение интенсивности отпечатка ипсилатеральной конечности на 17,5 % (с 189,0 (179,0–195,0) до 144,0 (139,0–149,2); $p = 0,02$) и площади отпечатка ипсилатеральной конечности на 30,6 % (с 1,2 (0,9–1,2) до 0,7 (0,7–0,8) см²; $p = 0,005$) по сравнению с фоновыми значениями. Визуализация данных изменений реализована в виде 3D-графиков. При проведении тестов на контралатеральной конечности и обеих задних конечностях в группе ложнооперированных животных схожих изменений паттернов походки не выявлено ($p > 0,05$).

При визуальном сравнении отпечатков лап здоровой крысы и крысы с периферической нейропатией было отмечено, что животное в меньшей степени наступает на травмированную лапу, как следствие, развиваются хромота и постуральная асимметрия, свойственные данной патологии. Дальнейший мониторинг (на 14, 21, 30, 60-е сутки после операции) показал постепенное увеличение площади и интенсивности отпечатка и уменьшение выраженности клинической картины, однако полного восстановления до исходного уровня не происходило (рис. 1).

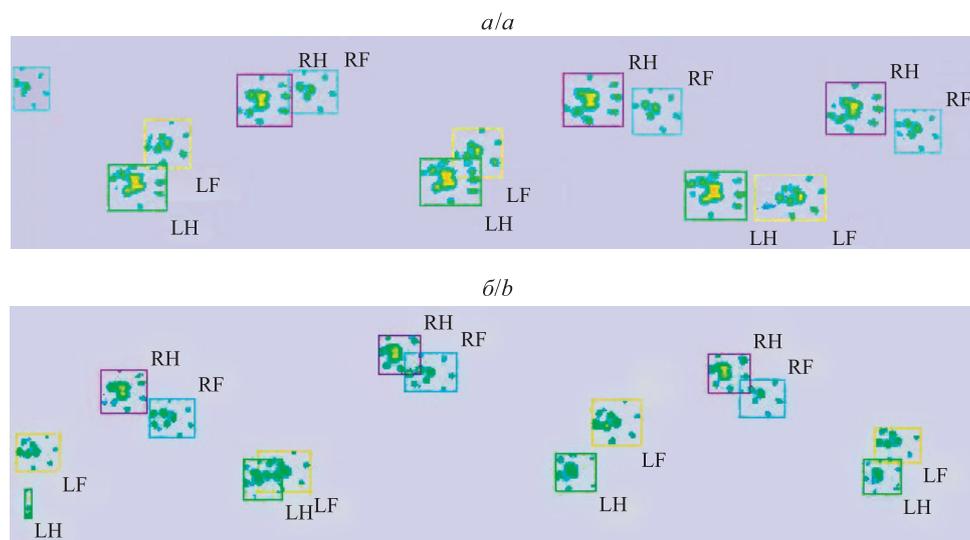


Рис. 1. Отпечатки лап здоровой крысы (а) и крысы с периферической нейропатией на 7-е сутки после лигирования седалищного нерва (б).

Обозначение лап: RH – правая задняя (контралатеральная); RF – правая передняя; LH – левая задняя (ипсилатеральная); LF – левая передняя

Fig 1. Limb imprints of a healthy rat (a) and a rat with peripheral neuropathy on the 7th day after ligation of the sciatic nerve.

Designation of paws: RH – right hind (contralateral); RF – right front; LH – left hind (ipsilateral); LF – left front

Влияние GW6471 на болевую чувствительность и паттерны походки у здоровых крыс и крыс с экспериментальной нейропатией. Установлено, что однократное внутрибрюшинное введение одной группе здоровых крыс растворителя, а второй группе здоровых крыс антагониста рецепторов PPAR α не вызывало статистически значимого снижения усредненных показателей ПНР и ЛПНР, а также выбранных параметров походки (табл. 1).

Таблица 1

Изменение значений показателей ноцицептивной чувствительности
и параметров походки в группах здоровых животных

Table 1

Change in the values of indicators of nociceptive sensitivity
and gait patterns in healthy rats

Показатели	Значение		Уровень значимости (<i>p</i>)
	До введения веществ	Через 1 ч после введения веществ	
<i>Здоровые животные + растворитель</i>			
ПНР	127 (124–129) г	123 (120–125) г	0,09
ЛПНР	23 (16–32) с	20 (17–28) с	0,62
Интенсивность отпечатка	187 (180–197)	182 (164–185)	0,69
Площадь отпечатка	1,0 (0,7–1,1) см ²	0,9 (0,7–1,0) см ²	0,23
Скорость переноса конечности	90 (88–97) см/с	90 (73–93) см/с	0,14
<i>Здоровые животные + GW6471</i>			
ПНР	131 (123–132) г	114 (108–119) г	0,08
ЛПНР	22 (18–23) с	20 (16–21) с	0,39
Интенсивность отпечатка	193 (180–194)	177 (171–191)	0,61
Площадь отпечатка	1,3 (1,1–1,4) см ²	1,1 (1,0–1,3) см ²	0,79
Скорость переноса конечности	109 (103–116) см/с	108 (93–120) см/с	0,56

При однократном внутрибрюшинном введении GW6471 в дозе 1 мг/кг крысам с периферической нейропатией на 7-е сутки после операции отмечено снижение ПНР ипсилатеральной конечности на 29,9 % (с 128,0 (123,0–132,5) до 83,0 (79,0–87,0) г; $p = 0,05$) и ЛПНР на 35,2 % (с 23,2 (20,1–24,7) до 14,6 (13,8–15,6) с; $p = 0,028$) относительно дооперационных значений (рис. 2 и 3). Внутрибрюшинное введение крысам смеси растворителей на фоне нейропатии (по аналогичной схеме) не влияло на величину ПНР и ЛПНР.

Применение GW6471 приводило к достоверному уменьшению интенсивности отпечатка ипсилатеральной конечности на 20,3 % (с 203,0 (178,1–205,4) до 160,0 (147,2–162,3); $p = 0,002$) и площади отпечатка ипсилатеральной конечности на 26,6 % (с 1,1 (1,0–1,3) до 0,8 (0,6–0,9) см²; $p = 0,05$) относительно значений до операции (рис. 4–6). Также фармакологическая блокада рецепторов PPAR α обуславливала достоверное снижение скорости переноса ипсилатеральной конечности у крыс с периферической нейропатией на 24,3 % (с 93,1 (90,7–103,6) до 77,3 (70,1–80,4) см/с; $p = 0,039$) по сравнению с фоновыми значениями (рис. 7). Данные регистрации паттернов походки для контралатеральной конечности, равно как и для обеих задних конечностей животных, которым вводили растворитель, свидетельствовали об отсутствии достоверных изменений исследуемых показателей.

Влияние сочетанного действия FAAs и GW6471 на болевую чувствительность и паттерны походки в условиях экспериментальной нейропатии. Однократное внутрибрюшинное введение FAAs в дозе 1,5 мг/кг крысам с периферической нейропатией на 7-е сутки после операции существенно ослабляло вызванную лигированием седалищного нерва механическую гипералгезию. Применение PEA обуславливало статистически значимое увеличение ПНР на 22,8 % (с 95,5 (91,3–100,8) до 115,0 (112,3–120,0) г; $p = 0,005$), применение SEA – на 26,2 % (с 88,0 (85,0–98,5) до 115,0 (111,0–117,0) г; $p = 0,007$), применение PGlyA – на 24,7 % (с 88,0 (81,0–93,0) до 110,0 (109,0–113,0) г; $p = 0,02$) по сравнению со значениями ПНР до их инъекции (см. рис. 2).

Введение FAAs на фоне фармакологической блокады рецепторов PPAR α на 7-е сутки после лигирования седалищного нерва также приводило к повышению ПНР независимо от используемого вещества (PEA, SEA, PGlyA). Так, предварительная инъекция GW6471 с последующим применением PEA вызывала увеличение ПНР на 21,6 % (с 85,0 (82,0–91,0) до 105,0 (100,0–114,0) г; $p = 0,027$) по отношению к его значениям до введения указанных веществ (см. рис. 2). Использование SEA на фоне блокады рецепторов PPAR α обуславливало рост исследуемого показателя на 21,4 % (с 87,0 (82,0–91,0) до 108,0 (97,0–112,0) г; $p = 0,018$) (см. рис. 2). У крыс, которым вводили PGlyA в сочетании с антагонистом рецепторов PPAR α , ПНР повышался на 16,6 % (с 86,0 (84,0–90,0) до 103,0 (91,0–111,0) г; $p = 0,018$) (см. рис. 2). Данный эффект был однократным и не обладал пролонгированным действием.

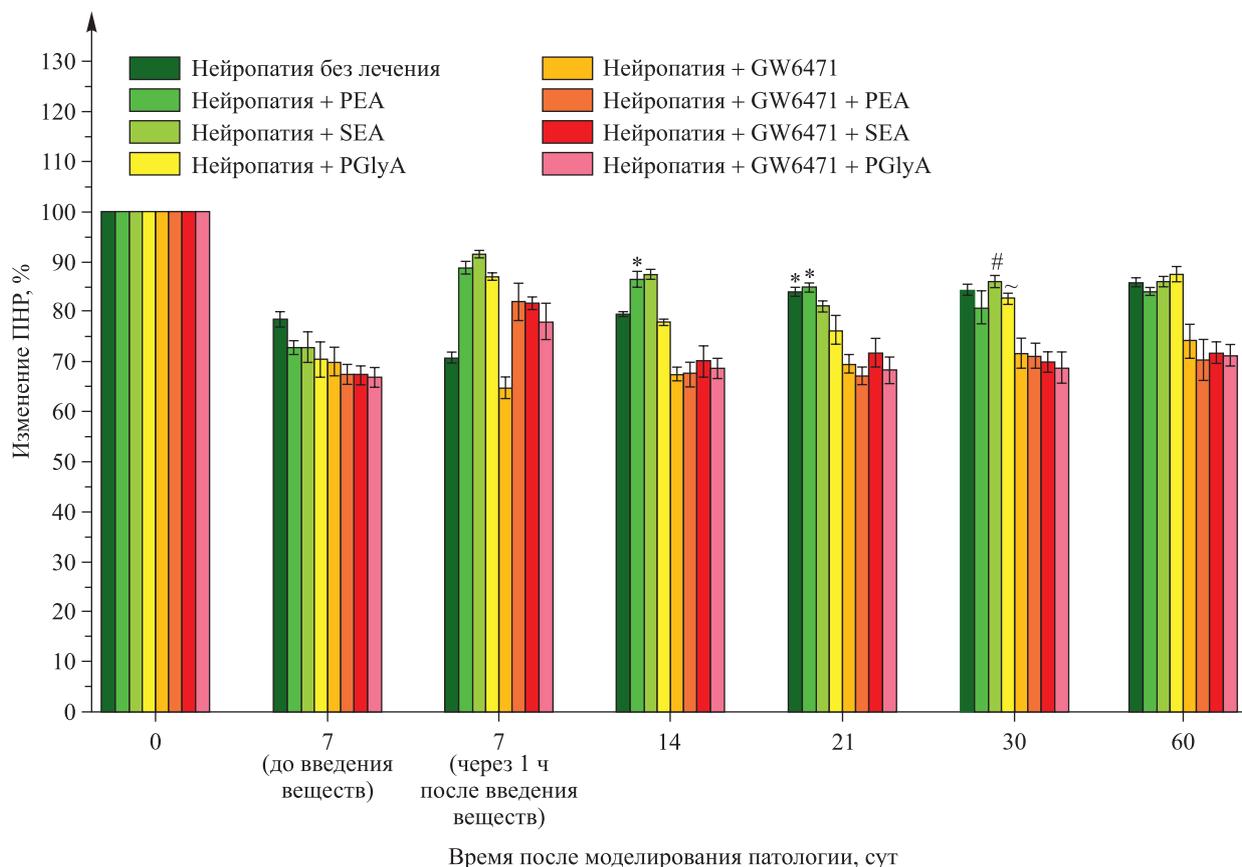


Рис. 2. Изменение ПНР ипсилатеральной конечности у крыс с периферической нейропатией в результате внутривентрикулярного введения GW6471 в дозе 1 мг/кг и FAAs (PEA, SEA, PGlyA) в дозе 1,5 мг/кг на 7-е сутки после лигирования седалищного нерва. Знаком * отмечены статистически значимые различия по сравнению с группой «нейропатия + GW6471 + PEA», знаком # – статистически значимые различия по сравнению с группой «нейропатия + GW6471 + SEA», знаком ~ – статистически значимые различия по сравнению с группой «нейропатия + GW6471 + PGlyA» (во всех случаях $p < 0,05$)

Fig. 2. Change in the nociceptive reaction threshold of the ipsilateral limb in rats with peripheral neuropathy as a result of intraperitoneal injection of GW6471 at a dose of 1 mg/kg and FAAs (PEA, SEA, PGlyA) at a dose of 1.5 mg/kg on the 7th day after ligation of the sciatic nerve.

Sign * marked statistically significant differences compared to the group «neuropathy + GW6471 + PEA», sign # – statistically significant differences compared to the group «neuropathy + GW6471 + SEA», sign ~ – statistically significant differences compared to the group «neuropathy + GW6471 + PGlyA» (in all cases, $p < 0.05$)

При сравнении значений ПНР травмированной конечности у крыс с периферической нейропатией в случае индивидуального введения FAAs и в случае инъекции FAAs на фоне фармакологической блокады рецепторов PPAR α отмечены статистически значимые различия между группами «нейропатия + PEA» и «нейропатия + GW6471 + PEA» (31,1 % ($p = 0,018$)) на 14-е сутки после моделирования патологии, а также между группами «нейропатия + SEA» и «нейропатия + GW6471 + SEA» (21,1 % ($p = 0,027$)) на 30-е сутки после операции (см. рис. 2).

Однократное внутривентрикулярное введение FAAs в дозе 1,5 мг/кг на 7-е сутки после лигирования седалищного нерва приводило к достоверному снижению термической аллодинии. Инъекция PEA повышала ЛПНР на 31,7 % (с 12,9 (11,3–15,1) до 16,9 (15,5–18,4) с; $p = 0,005$), а инъекция PGlyA – на 17,4 % (с 14,6 (13,8–15,7) до 17,4 (16,3–19,1) с; $p = 0,04$) относительно величины данного показателя до введения указанных веществ (см. рис. 3). Использование SEA вызывало более выраженное увеличение значений ЛПНР – на 53,3 % (с 16,5 (15,3–18,7) до 27,2 (23,7–28,9) с; $p = 0,007$), но только на 7-е сутки мониторинга через 1 ч после введения (см. рис. 3).

Инъекция SEA после введения GW6471 обеспечивала достоверное увеличение ЛПНР на 29,8 % (с 15,6 (15,1–17,8) до 20,7 (19,6–22,9) с; $p = 0,018$) (см. рис. 3). Отмечены статистически значимые различия между группами «нейропатия + SEA» и «нейропатия + GW6471 + SEA» (52,5 % ($p = 0,027$)).

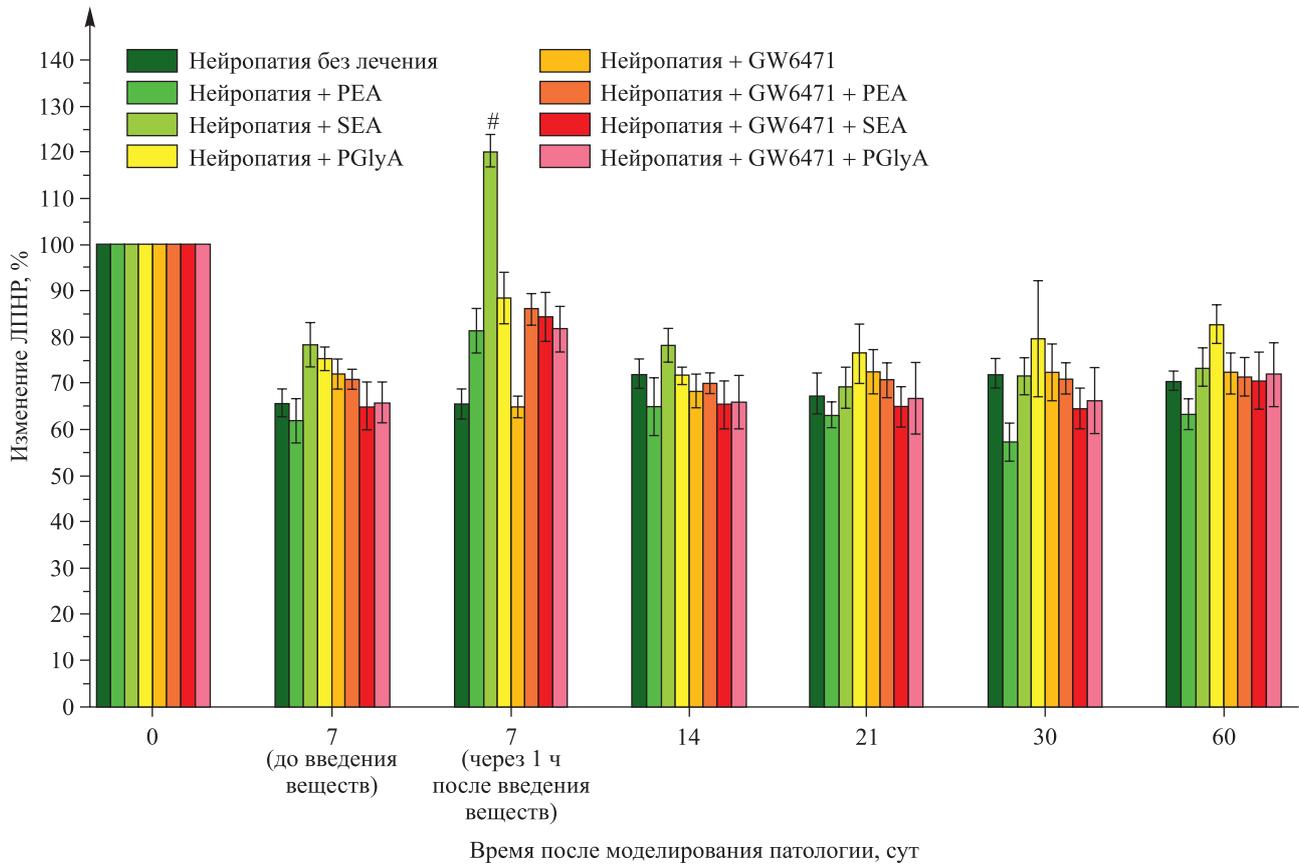


Рис. 3. Изменение ЛПНР у крыс с периферической нейропатией в результате внутрибрюшинного введения GW6471 в дозе 1 мг/кг и FAAs (PEA, SEA, PGlyA) в дозе 1,5 мг/кг на 7-е сутки после лигирования седалищного нерва. Знаком # обозначены статистически значимые различия по сравнению с группой «нейропатия + GW6471 + SEA» ($p < 0,05$)

Fig. 3. Change in the latent period of nociceptive reaction in rats with peripheral neuropathy as a result of intraperitoneal injection of GW6471 at a dose of 1 mg/kg and FAAs (PEA, SEA, PGlyA) at a dose of 1.5 mg/kg on the 7th day after ligation of the sciatic nerve. Sign # marked statistically significant differences compared to the group «neuropathy + GW6471 + SEA» ($p < 0.05$)

Применение PEA на фоне фармакологической блокады рецепторов PPAR α способствовало повышению ЛПНР на 21,6 % (с 16,1(15,4–17,2) до 20,7 (17,4–22,1) с; $p = 0,018$), тогда как использование PGlyA в аналогичных условиях обуславливало рост вышеупомянутого показателя на 24,2 % (с 16,1 (13,9–17,7) до 19,8 (17,5–22,1) с; $p = 0,018$) относительно его значений до инъекций этих веществ (см. рис. 3). Таким образом, анальгетический эффект введения PEA и PGlyA на фоне фармакологической блокады рецепторов PPAR α соизмерим с уровнем изменения ЛПНР после введения указанных веществ животным без предварительной блокады рецепторов.

При анализе параметров походки через 1 ч после введения PEA, SEA или PGlyA в дозе 1,5 мг/кг отмечено статистически значимое увеличение интенсивности отпечатка на 16,9 % (с 149,8 (127,9–159,5) до 167,7 (157,8–186,7); $p = 0,02$), 18,5 % (с 139,0 (133,6–147,8) до 176,6 (147,9–187,6); $p = 0,02$) и 12,1 % (с 138,8 (116,5–149,9) до 151,9 (126,9–167,3); $p = 0,02$) по сравнению с исходными значениями соответственно (см. рис. 4).

Однократное введение PEA в сочетании с антагонистом рецепторов PPAR α на 7-е сутки после лигирования седалищного нерва оказывало антиноцицептивное действие, которое выражалось в повышении интенсивности отпечатка на 17,8 % (с 145,3 (109,2–159,9) до 161,8 (157,6–167,6); $p = 0,23$) по сравнению с таковой до их введения, однако результаты не были статистически значимыми (см. рис. 4). В то же время инъекции SEA и PGlyA на фоне фармакологической блокады рецепторов PPAR α в указанный период исследования обеспечивали более выраженное анальгетическое действие, что проявлялось в устранении механической гипералгезии после лигирования седалищного нерва, повышении среднегрупповых значений интенсивности отпечатка ипсилатеральной конечности на 23,1 % (с 145,4 (134,1–174,3) до 199,5 (186,6–202,3); $p = 0,05$) для SEA и 26,3 % (с 156,6 (133,1–164,4) до 200,0 (178,6–201,8); $p = 0,018$) для PGlyA (см. рис. 4).

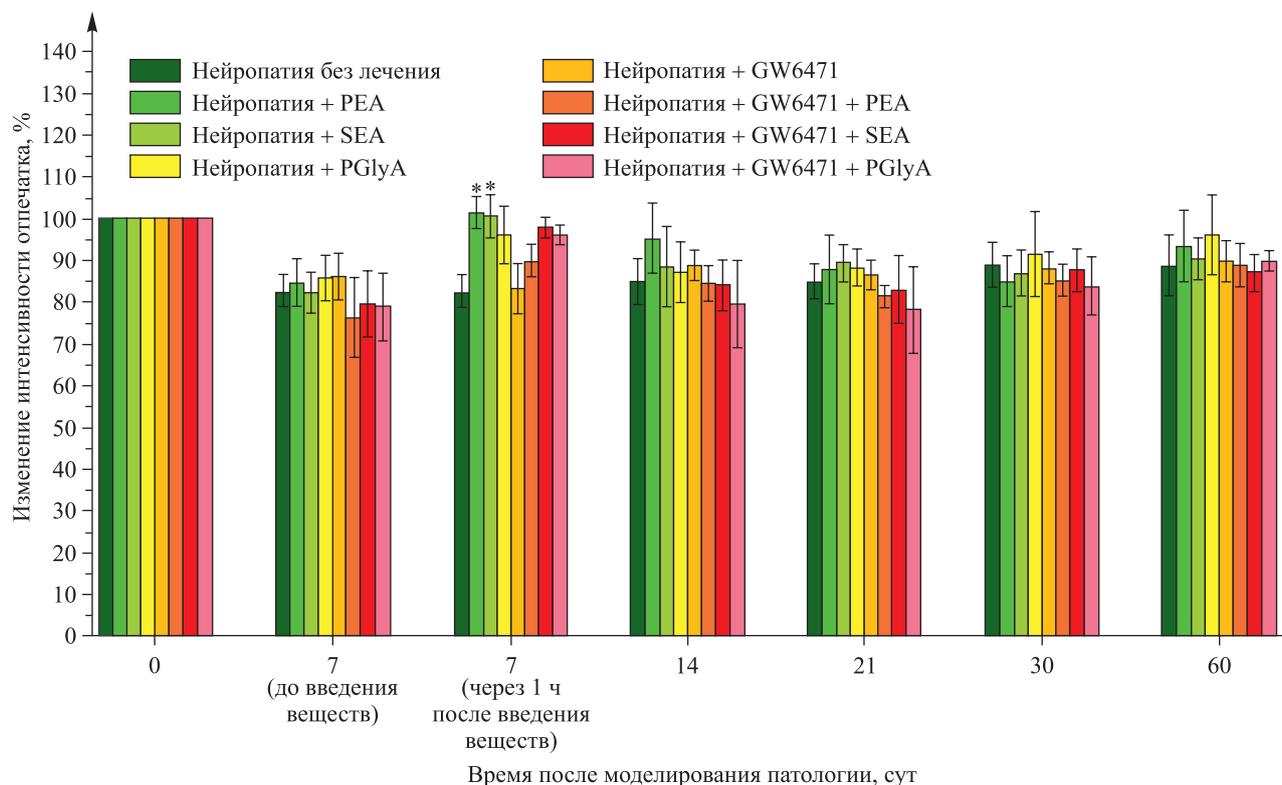


Рис. 4. Изменение интенсивности отпечатка ипсилатеральной конечности у крыс с периферической нейропатией в результате внутрибрюшинного введения GW6471 в дозе 1 мг/кг и FAAs (PEA, SEA, PGlyA) в дозе 1,5 мг/кг на 7-е сутки после лигирования седалищного нерва. Знаком * отмечены статистически значимые различия по сравнению с группой «нейропатия + GW6471 + PEA» ($p < 0,05$)

Fig. 4. Change in intensity of the ipsilateral limb imprint in rats with peripheral neuropathy as a result of intraperitoneal injection of GW6471 at a dose of 1 mg/kg and FAAs (PEA, SEA, PGlyA) at a dose of 1.5 mg/kg on the 7th day after ligation of the sciatic nerve. Sign * marked statistically significant differences compared to the group «neuropathy + GW6471 + PEA» ($p < 0.05$)

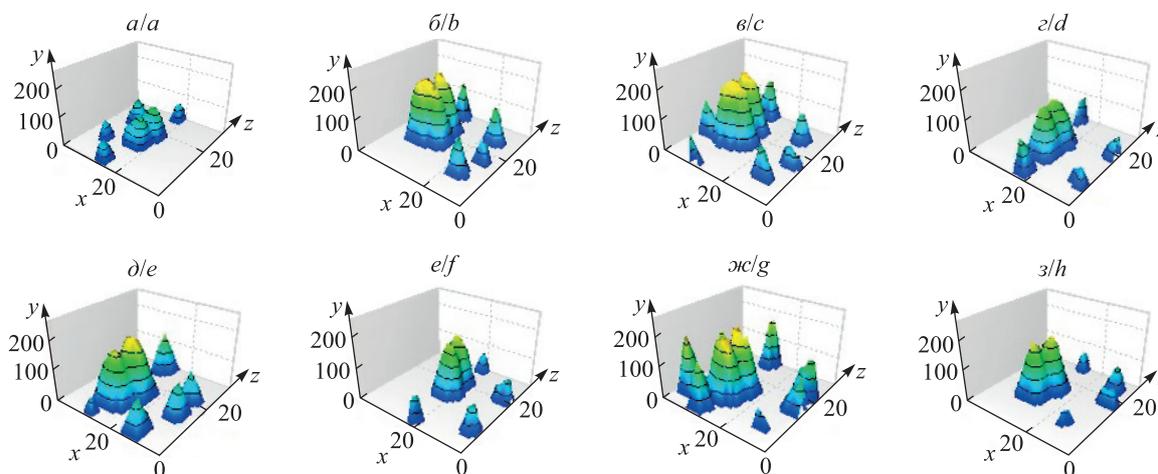


Рис. 5. Интенсивность 3D-отпечатка ипсилатеральной конечности у крыс с периферической нейропатией в результате внутрибрюшинного введения GW6471 в дозе 1 мг/кг и FAAs (PEA, SEA, PGlyA) в дозе 1,5 мг/кг на 7-е сутки после лигирования седалищного нерва: а – нейропатия без лечения; б – нейропатия + PEA; в – нейропатия + SEA; г – нейропатия + PGlyA; д – здоровые животные; е – нейропатия + GW6471 + PEA; ж – нейропатия + GW6471 + SEA; з – нейропатия + GW6471 + PGlyA. Обозначения осей: y – интенсивность отпечатка; x – длина отпечатка, усл. ед.; z – ширина отпечатка, усл. ед.

Fig. 5. Intensity of 3D impression of the ipsilateral limb in rats with peripheral neuropathy as a result of intraperitoneal injection of GW6471 at a dose of 1 mg/kg and FAAs (PEA, SEA, PGlyA) at a dose of 1.5 mg/kg on the 7th day after ligation of the sciatic nerve: a – neuropathy without treatment; b – neuropathy + PEA; c – neuropathy + SEA; d – neuropathy + PGlyA; e – healthy animals; f – neuropathy + GW6471 + PEA; g – neuropathy + GW6471 + SEA; h – neuropathy + GW6471 + PGlyA. Designation of axes: y – the intensity of the limb imprint; x – the length of the limb imprint, arbitrary units; z – the width of the limb imprint, arbitrary units

На рис. 5 отражена интенсивность 3D-отпечатка, представленная переходом от синего к красному цвету. Как видно из 3D-графиков, при нарастании уровня аллодинии после моделирования нейропатии седалищного нерва наблюдаются снижение силы надавливания на поверхность и изменение положения лапы. Животные наступают на пальцы в меньшей степени, чем на пяtku. При сравнении интенсивности отпечатка ипсилатеральной конечности в группах животных с периферической нейропатией после однократного индивидуального введения FAAs и после инъекции FAAs на фоне фармакологической блокады рецепторов PPAR α отмечено равнозначное анальгезирующее действие, которое сопоставимо с данными, полученными для контралатеральной конечности.

При однократном внутрибрюшинном введении FAAs (PEA, SEA, PGlyA) животным с периферической нейропатией на 7-е сутки после моделирования патологии наблюдалось достоверное увеличение площади отпечатка ипсилатеральной конечности на 32,5 % (с 0,6 (0,4–0,7) до 0,9 (0,7–1,0) см²; $p = 0,03$) для PEA, 32,8 % (с 0,8 (0,5–0,9) до 1,1 (1,0–1,3) см²; $p = 0,02$) для SEA и 15,4 % (с 0,5 (0,5–0,6) до 0,6 (0,5–0,8) см²; $p = 0,05$) для PGlyA (см. рис. 6). Антиноцицептивный эффект носил обратимый характер, и на 14-е сутки после операции площадь отпечатка вернулась к уровню до введения FAAs ($p < 0,05$).

В случае применения FAAs на фоне фармакологической блокады рецепторов PPAR α отмечалось статистически значимое увеличение площади отпечатка травмированной конечности относительно таковой до их введения. Так, инъекция GW6471 с последующим внутрибрюшинным введением PEA приводила к статистически значимому увеличению площади отпечатка ипсилатеральной конечности на 17,5 % (с 0,8 (0,7–1,1) до 1,0 (0,8–1,0) см²; $p = 0,02$), тогда как использование PGlyA в аналогичных условиях повышало

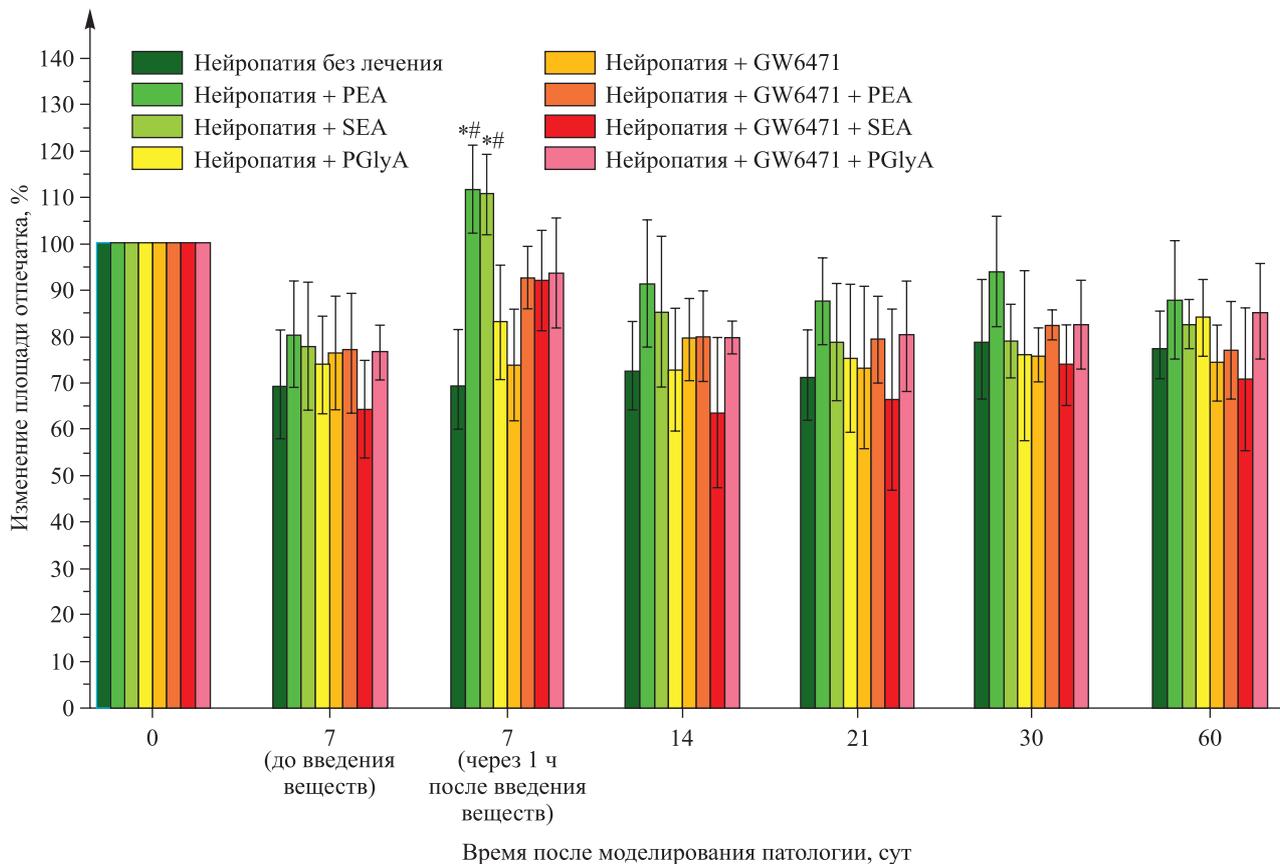


Рис. 6. Изменение площади отпечатка ипсилатеральной конечности у крыс с периферической нейропатией в результате внутрибрюшинного введения GW6471 в дозе 1 мг/кг и FAAs (PEA, SEA, PGlyA) в дозе 1,5 мг/кг на 7-е сутки после лигирования седалищного нерва.

Знаком * отмечены статистически значимые различия по сравнению с группой «нейропатия + GW6471 + PEA», знаком # – статистически значимые различия по сравнению с группой «нейропатия + GW6471 + SEA» (в обоих случаях $p < 0,05$)

Fig. 6. Change in area of the ipsilateral limb imprint in rats with peripheral neuropathy as a result of intraperitoneal injection of GW6471 at a dose of 1 mg/kg and FAAs (PEA, SEA, PGlyA) at a dose of 1.5 mg/kg on the 7th day after ligation of the sciatic nerve.

Sign * marked statistically significant differences compared to the group «neuropathy + GW6471 + PEA», sign # – statistically significant differences compared to the group «neuropathy + GW6471 + SEA» (in both cases, $p < 0.05$)

вышеупомянутый показатель на 19,1 % (с 0,9 (0,8–1,0) до 1,0 (0,9–1,1) см²; $p = 0,039$), а использование SEA – на 31,3 % (с 0,8 (0,7–0,8) до 1,1 (0,8–1,2) см²; $p = 0,04$) (см. рис. 6), при этом восстановления площади отпечатка до исходного уровня не происходило.

Были зарегистрированы достоверные различия между группами «нейропатия + PEA» и «нейропатия + GW6471 + PEA» (18,7 % ($p = 0,03$)), а также между группами «нейропатия + SEA» и «нейропатия + GW6471 + SEA» (19,3 % ($p = 0,02$)) на 7-е сутки после операции (см. рис. 6).

Статистически значимых изменений исследуемых параметров для контралатеральной конечности крыс с периферической нейропатией после введения вышеупомянутых веществ не выявлено.

При анализе скорости переноса конечности у крыс с нейропатией после внутрибрюшинного введения исследуемых FAAs отмечено статистически значимое увеличение данного показателя на 21,1 % (с 85,9 (73,8–91,3) до 104,7 (92,3–117,6) см/с; $p = 0,02$) для PEA, 22,3 % (с 97,1 (81,8–101,9) до 104,9 (100,4–109,1) см/с; $p = 0,04$) для SEA и 24,2 % (с 87,5 (65,8–97,0) до 109,3 (104,2–114,4) см/с; $p = 0,02$) для PGlyA (см. рис. 7). В то же время при анализе выбранных паттернов походки на контралатеральной конечности подобного эффекта не обнаружено.

Внутрибрюшинное введение исследуемых FAAs на фоне фармакологической блокады рецепторов PPAR α статистически значимо увеличивало скорость переноса ипсилатеральной конечности у крыс на 7-е сутки после лигирования седалищного нерва. Инъекция PEA в сочетании с GW6471 повышала данный показатель на 18,2 % (с 145,3 (109,2–159,9) до 161,8 (157,6–167,6) см/с; $p = 0,027$). Введение SEA на фоне фармакологической блокады рецепторов PPAR α увеличивало скорость переноса ипсилатеральной конечности на 23,1 % (с 145,4 (134,1–174,3) до 199,5 (186,6–202,3) см/с; $p = 0,045$), а введение PGlyA – на 26,3 % (с 156,6 (133,1–164,4) до 200,0 (178,6–201,8) см/с; $p = 0,017$) (см. рис. 7).

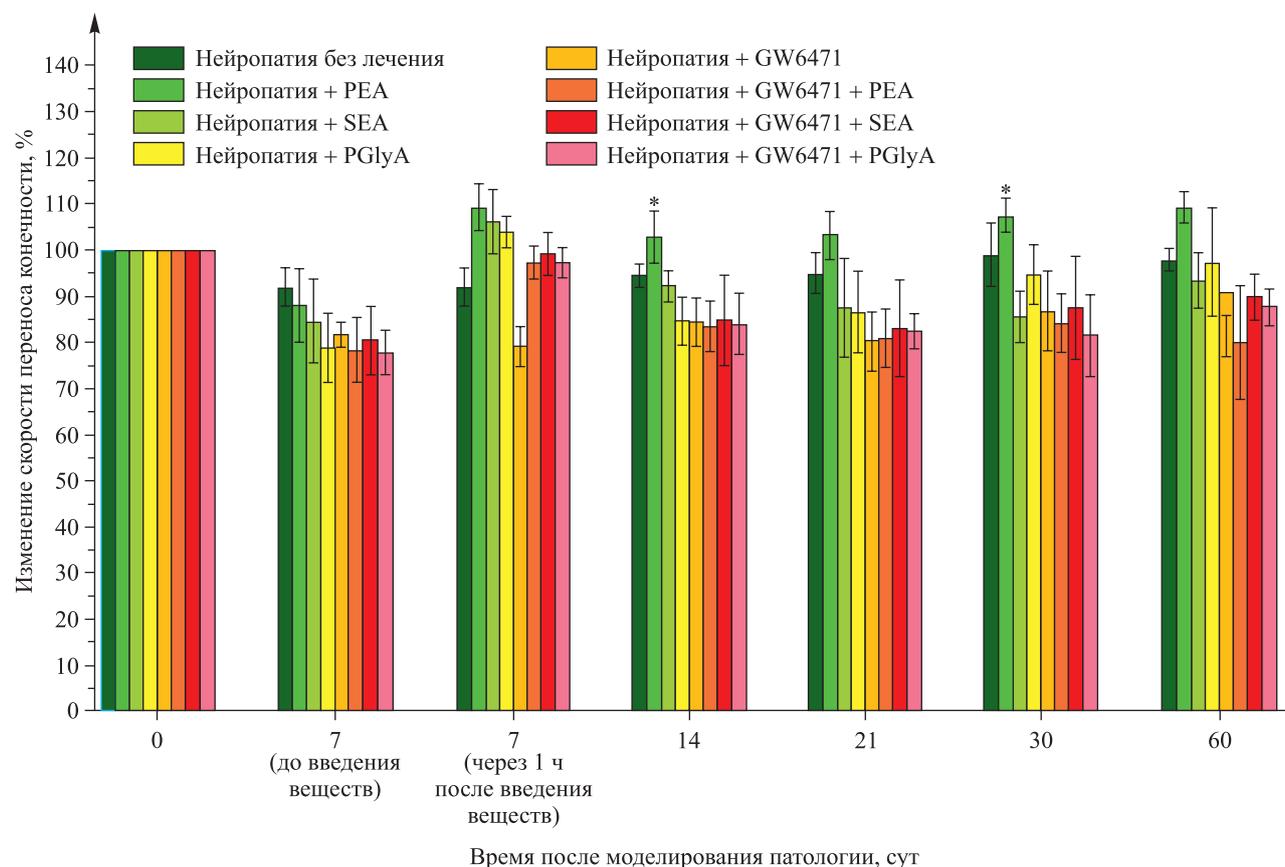


Рис. 7. Изменение скорости переноса ипсилатеральной конечности у крыс с периферической нейропатией в результате внутрибрюшинного введения GW6471 в дозе 1 мг/кг и FAAs (PEA, SEA, PGlyA) в дозе 1,5 мг/кг на 7-е сутки после лигирования седалищного нерва. Знаком * отмечены статистически значимые различия по сравнению с группой «нейропатия + GW6471 + PEA» ($p < 0,05$)

Fig. 7. Change in the transfer speed of the ipsilateral limb in rats with peripheral neuropathy as a result of intraperitoneal injection of GW6471 at a dose of 1 mg/kg and FAAs (PEA, SEA, PGlyA) at a dose of 1.5 mg/kg on the 7th day after ligation of the sciatic nerve. Sign * marked statistically significant differences compared to the group «neuropathy + GW6471 + PEA» ($p < 0.05$)

Отмечены статистически значимые различия между группами «нейропатия + РЕА» и «нейропатия + GW6471 + РЕА» (20,2 % ($p = 0,018$) и 23,3 % ($p = 0,04$)) на 14-е и 30-е сутки после операции (см. рис. 7).

При анализе взаимосвязи параметров ноцицептивной чувствительности и паттернов походки с расчетом коэффициентов корреляции Спирмена (табл. 2) достоверные корреляционные связи выявлены во всех экспериментальных группах.

Таблица 2

**Коэффициенты корреляции ноцицептивной чувствительности
и паттернов походки у групп крыс с периферической нейропатией**

Table 2

**Correlation coefficients of the nociceptive sensitivity
and gait patterns in groups of rats with peripheral neuropathy**

Группы животных	Площадь отпечатка		Интенсивность отпечатка		Скорость переноса конечности	
	Корреляция с ПНР	Корреляция с ЛПНР	Корреляция с ПНР	Корреляция с ЛПНР	Корреляция с ПНР	Корреляция с ЛПНР
Нейропатия + РЕА	0,61	0,42	0,81*	0,80*	0,37	0,02
Нейропатия + SEA	0,73	0,98*	0,87*	0,83*	0,77*	0,91*
Нейропатия + PGlyA	0,95*	0,95*	0,96*	0,92*	0,84*	0,77*
Нейропатия + GW6471 + РЕА	0,96*	0,97*	0,89*	0,86*	0,88*	0,84*
Нейропатия + GW6471 + SEA	0,93*	0,96*	0,88*	0,91*	0,92*	0,87*
Нейропатия + GW6471 + PGlyA	0,93*	0,96*	0,83*	0,88*	0,96*	0,94*

*Достоверная связь между сравниваемыми параметрами ($p < 0,05$).

Паттерны походки статистически значимо коррелировали как с ПНР, так и с ЛПНР. Наименьшие значения коэффициента корреляции отмечены в отношении скорости переноса конечности и ЛПНР у всех экспериментальных групп, что может указывать на слабую взаимосвязь между данными показателями ввиду регистрации ответной реакции на разные по предъявлению стимулы – термический (ЛПНР) и механический (скорость переноса конечности).

Анализ имеющихся литературных данных. Механизмы анальгетического действия FAAs до конца не раскрыты. По известной на сегодняшний день информации, в достаточной мере исследования проведены лишь для РЕА, тогда как способ реализации анальгетических эффектов SEA и PGlyA остается малоизученным. Согласно данным литературы выявлены несколько механизмов действия РЕА. Первый механизм предполагает, что РЕА посредством стимулирования PPAR α снижает активацию тучных клеток на участках травмированных нервов и способствует высвобождению провоспалительных медиаторов [8]. Также имеются доказательства, что тучные клетки находятся в непосредственной близости от нервных окончаний и их дегрануляция может усилить ноцицептивный сигнал. В связи с этим периферические тучные клетки считаются провоспалительными и проноцицептивными. Вторым механизмом является так называемый эффект свиты: РЕА усиливает иммуномодулирующие и анальгетические эффекты анандамида (AEA), повышая его сродство к рецепторам CB1R. Кроме того, РЕА является субстратным конкурентом AEA для гидролизующего фермента FAAH и, таким образом, ингибирует его деградацию [14]. Третий механизм основан на способности РЕА непосредственно стимулировать орфанные рецепторы GPR55 и ядерные рецепторы PPAR α и PPAR γ [3].

В отличие от PPAR α экспрессия PPAR β или PPAR γ в ганглиях дорсальных корешков остается неисследованной. Несмотря на малое количество данных о распределении PPAR α на ноцицептивных первичных афферентах (А δ - и С-волокна), известные анальгетические эффекты агонистов PPAR α , вводимых локально животным с моделями воспалительной и нейропатической боли, предполагают, что активация PPAR α в ганглиях дорсальных корешков приводит к подавлению возбуждения ноцицептивных афферентных волокон [8]. Согласно литературным источникам были проведены исследования, которые отражают роль рецепторов PPAR α в ноцицептивной чувствительности. Так, в работе [15] показано подавление болевых ощущений, вызванных формалином, после введения агониста PPAR α в дозе 0,1–10,0 мкг на 10 мкл швейцарским мышам.

В исследовании [16] установлено, что сочетанное подкожное введение GW7647 (агонист PPAR α) и РЕА в дозах 50 мг/кг снижает гипералгезию в модели нейропатической боли при хроническом ущемлении седалищного нерва.

Авторами статьи [17] отмечено, что у мышей линии C57BL, которые лишены рецепторов PPAR α , наблюдается более высокая чувствительность к термическим и механическим стимулам, а также холододовая и механическая аллодиния и тепловая гипералгезия.

В исследовании [18], посвященном нейропатической аллодинии, вызываемой паклитакселом, показано, что введение РЕА в дозе 30 мг/кг оказывало антиаллодиническое действие, а инъекция GW6471 в дозе 2 мг/кг отменяла данный эффект.

Представленные результаты работы, проводимой в рамках диссертационного исследования, уточняют возможное участие FAAs в условиях фармакологической блокады ядерных рецепторов PPAR α в изменении ноцицептивных реакций и паттернов походки у животных с экспериментальной периферической нейропатией и являются новыми сведениями в этой области.

В ходе анализа экспериментальных данных установлено, что однократное внутривбрюшинное введение здоровым крысам GW6471 в дозе 1 мг/кг не вызывало достоверных изменений ПНР, ЛПНР и паттернов походки. В результате проведенных исследований выявлено, что введение крысам с периферической нейропатией на 7-е сутки после операции FAAs в дозе 1,5 мг/кг на фоне блокады рецепторов PPAR α (GW6471 в дозе 1 мг/кг) приводило к статистически значимому повышению ноцицептивной чувствительности и параметров походки относительно значений указанных показателей у экспериментальных животных со сформированной патологией до инъекции исследуемых веществ.

Поскольку рецепторы PPAR α были заблокированы посредством введения антагониста, а антиаллодиническое действие выявлено при регистрации ноцицептивных реакций и паттернов походки, можно предположить, что данный эффект опосредуется через взаимодействие FAAs с PPAR γ , но возможно вовлечение и других рецепторных систем, отличных от PPARs, в частности орфанных (GPR18, GPR55), каннабиноидных (CBR1 и CBR2) и ванилоидных (TRPV1) рецепторов.

Заключение

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что однократное внутривбрюшинное введение здоровым крысам GW6471 (антагониста ядерных рецепторов PPAR α , связанных с G-белком) в дозе 1 мг/кг не вызывало достоверных изменений ПНР, ЛПНР и паттернов походки.

Инъекция крысам с нейропатией седалищного нерва FAAs в дозе 1,5 мг/кг при фармакологической блокаде рецепторов PPAR α через 1 ч оказывала выраженное анальгезирующее действие, что подтверждает статистически значимое увеличение ПНР и ЛПНР. Схожий результат зафиксирован при регистрации паттернов походки, а именно отмечено увеличение интенсивности и площади отпечатка, а также скорости переноса конечности после введения исследуемых веществ. Однако для дальнейшего выяснения способов реализации антиноцицептивного действия данного комплекса соединений необходимы дополнительные исследования с использованием методов иммуногистохимии.

Библиографические ссылки

1. Di Cesare Mannelli L, D'Agostino G, Pacini A, Russo R, Zanardelli M, Ghelardini C, et al. Palmitoylethanolamide is a disease-modifying agent in peripheral neuropathy: pain relief and neuroprotection share a PPAR-alpha-mediated mechanism. *Mediators of Inflammation*. 2013;328797. DOI: 10.1155/2013/328797.
2. Доронькина АС, Михальчук АЛ, Губкин СВ, Молчанова АЮ, Богдан ВГ. Влияние амидов жирных кислот с этаноламином и глицином на ноцицептивные реакции и параметры походки крыс в норме и при экспериментальной периферической мононейропатии. *Вестні Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. Серыя медыцынскіх навук*. 2022;19(4):364–374. DOI: 10.29235/1814-6023-2022-19-4-364-374.
3. Молчанова АЮ. *Эндоканнабиноидная система: физиология, патофизиология, терапевтический потенциал*. Улащик ВС, редактор. Минск: Беларуская навука; 2015. 211 с.
4. Дегтярев ВП, Раевская ОС. *Боль и обезболивание. Нейрофизиологические и нейрохимические механизмы*. Москва: МГМСУ; 2011. 96 с.
5. Мелик-Касумов ТБ, Павлють ТО, Жаворонок ИП, Антипова ОА, Пехтерева ЕИ, Василькевич АИ и др. Оценка антиноцицептивного действия амидов пальмитиновой кислоты. *Вестні Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. Серыя медыцынскіх навук*. 2016;4:25–31.
6. Lyons DN, Zhang L, Danaher RJ, Miller CS, Westlund KN. PPAR γ agonists attenuate trigeminal neuropathic pain. *The Clinical Journal of Pain*. 2017;33(12):1071–1080. DOI: 10.1097/AJP.0000000000000509.
7. Costa B, Comelli F, Bettoni I, Colleoni M, Giagnoni G. The endogenous fatty acid amide, palmitoylethanolamide, has anti-allodynic and anti-hyperalgesic effects in a murine model of neuropathic pain: involvement of CB $_1$, TRPV1 and PPAR γ receptors and neurotrophic factors. *Pain*. 2008;139(3):541–550. DOI: 10.1016/j.pain.2008.06.003.
8. Okine BN, Gaspar JC, Finn DP. PPARs and pain. *British Journal of Pharmacology*. 2019;176(10):1421–1442. DOI: 10.1111/bph.14339.
9. Caillaud M, Patel NH, White A, Wood M, Contreras KM, Toma W, et al. Targeting peroxisome proliferator-activated receptor- α (PPAR- α) to reduce paclitaxel-induced peripheral neuropathy. *Brain, Behavior, and Immunity*. 2021;93:172–185. DOI: 10.1016/j.bbi.2021.01.004.
10. Hestehave S. The influence of rat strain of the development of neuropathic pain and comorbid anxio-depressive behavior after nerve injury. *Scientific Reports*. 2020;10(1):218–225. DOI: 10.1038/s41598-020-77640-8.

11. Menéndez L, Lastra A, Hidalgo A, Baamonde A. Unilateral hot plate test: a simple and sensitive method for detecting central and peripheral hyperalgesia in mice. *Journal of Neuroscience Methods*. 2002;113(1):91–97. DOI: 10.1016/s0165-0270(01)00483-6.
12. Santos-Nogueira E, Redondo Castro E, Mancuso R, Navarro X, Randall – Selitto test: a new approach for the detection of neuropathic pain after spinal cord injury. *Journal of Neurotrauma*. 2012;29(5):898–904. DOI: 10.1089/neu.2010.1700.
13. Heinzel J, Längle G, Oberhauser V, Hausner T, Kolbenschlag J, Prahm C, et al. Use of the CatWalk gait analysis system to assess functional recovery in rodent models of peripheral nerve injury – a systematic review. *Journal of Neuroscience Methods*. 2020;345:108889. DOI: 10.1016/j.jneumeth.2020.108889.
14. Aloe L, Leon A, Levi-Montalcini R. A proposed autacoid mechanism controlling mastocyte behaviour. *Agents and Actions*. 1993;39(1 supplement):C145–C147. DOI: 10.1007/BF01972748.
15. Russo R, LoVerme J, La Rana G, D’Agostino G, Sasso O, Calignano A, et al. Synergistic antinociception by the cannabinoid receptor agonist anandamide and the PPAR- α receptor agonist GW7647. *European Journal of Pharmacology*. 2007;566(1–3):117–119. DOI: 10.1016/j.ejphar.2007.03.007.
16. LoVerme J, Russo R, La Rana G, Fu J, Farthing J, Mattace-Raso G, et al. Rapid broad-spectrum analgesia through activation of peroxisome proliferator-activated receptor- α . *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 2006;319(3):1051–1061. DOI: 10.1124/jpet.106.111385.
17. Ruiz-Medina J, Flores JA, Tasset I, Tunez I, Valverde O, Fernandez-Espejo E. Alteration of neuropathic and visceral pain in female C57BL/6J mice lacking the PPAR- α gene. *Psychopharmacology*. 2012;222(3):477–488. DOI: 10.1007/s00213-012-2662-8.
18. Donvito G, Wilkerson JL, Damaj MI, Lichtman AH. Palmitoylethanolamide reverses paclitaxel-induced allodynia in mice. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 2016;359(2):310–318. DOI: 10.1124/jpet.116.236182.

References

1. Di Cesare Mannelli L, D’Agostino G, Pacini A, Russo R, Zanardelli M, Ghelardini C, et al. Palmitoylethanolamide is a disease-modifying agent in peripheral neuropathy: pain relief and neuroprotection share a PPAR-alpha-mediated mechanism. *Mediators of Inflammation*. 2013;328797. DOI: 10.1155/2013/328797.
2. Doronkina AS, Mikhalechuk AL, Goubkin SV, Molchanova AY, Bogdan VG. Effects of fatty acid amides with ethanolamine and glycine on nociceptive reactions and gait parameters in rats in normal and experimental peripheral mononeuropathy. *Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical Series*. 2022;19(4):364–374. DOI: 10.29235/1814-6023-2022-19-4-364-374. Russian.
3. Molchanova AY. *Endokannabinoidnaya sistema: fiziologiya, patofiziologiya, terapevticheskii potentsial* [Endocannabinoid system: physiology, pathophysiology, therapeutic potential]. Ulashchik VS, editor. Minsk: Belaruskaja navuka; 2015. 211 p. Russian.
4. Degtyarev VP, Raevskaya OS. *Bol’ i obezboivanie. Neurofiziologicheskie i neurokhimicheskie mekhanizmy* [Pain and pain relief. Neurophysiological and neurochemical mechanisms]. Moscow: Moscow State University of Medicine and Dentistry; 2011. 96 p. Russian.
5. Melik-Kasumov TB, Pavlut TO, Zhavoronok IP, Antipova OA, Pehtereva EI, Vasilkevich AI, et al. Assessment of antinociceptive effects of palmitic acid amides. *Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical Series*. 2016;4:25–31. Russian.
6. Lyons DN, Zhang L, Danaher RJ, Miller CS, Westlund KN. PPAR γ agonists attenuate trigeminal neuropathic pain. *The Clinical Journal of Pain*. 2017;33(12):1071–1080. DOI: 10.1097/AJP.0000000000000509.
7. Costa B, Comelli F, Bettoni I, Colleoni M, Giagnoni G. The endogenous fatty acid amide, palmitoylethanolamide, has anti-allodynic and anti-hyperalgesic effects in a murine model of neuropathic pain: involvement of CB $_1$, TRPV1 and PPAR γ receptors and neurotrophic factors. *Pain*. 2008;139(3):541–550. DOI: 10.1016/j.pain.2008.06.003.
8. Okine BN, Gaspar JC, Finn DP. PPARs and pain. *British Journal of Pharmacology*. 2019;176(10):1421–1442. DOI: 10.1111/bph.14339.
9. Caillaud M, Patel NH, White A, Wood M, Contreras KM, Toma W, et al. Targeting peroxisome proliferator-activated receptor- α (PPAR- α) to reduce paclitaxel-induced peripheral neuropathy. *Brain, Behavior, and Immunity*. 2021;93:172–185. DOI: 10.1016/j.bbi.2021.01.004.
10. Hestehave S. The influence of rat strain of the development of neuropathic pain and comorbid anxio-depressive behavior after nerve injury. *Scientific Reports*. 2020;10(1):218–225. DOI: 10.1038/s41598-020-77640-8.
11. Menéndez L, Lastra A, Hidalgo A, Baamonde A. Unilateral hot plate test: a simple and sensitive method for detecting central and peripheral hyperalgesia in mice. *Journal of Neuroscience Methods*. 2002;113(1):91–97. DOI: 10.1016/s0165-0270(01)00483-6.
12. Santos-Nogueira E, Redondo Castro E, Mancuso R, Navarro X, Randall – Selitto test: a new approach for the detection of neuropathic pain after spinal cord injury. *Journal of Neurotrauma*. 2012;29(5):898–904. DOI: 10.1089/neu.2010.1700.
13. Heinzel J, Längle G, Oberhauser V, Hausner T, Kolbenschlag J, Prahm C, et al. Use of the CatWalk gait analysis system to assess functional recovery in rodent models of peripheral nerve injury – a systematic review. *Journal of Neuroscience Methods*. 2020;345:108889. DOI: 10.1016/j.jneumeth.2020.108889.
14. Aloe L, Leon A, Levi-Montalcini R. A proposed autacoid mechanism controlling mastocyte behaviour. *Agents and Actions*. 1993;39(1 supplement):C145–C147. DOI: 10.1007/BF01972748.
15. Russo R, LoVerme J, La Rana G, D’Agostino G, Sasso O, Calignano A, et al. Synergistic antinociception by the cannabinoid receptor agonist anandamide and the PPAR- α receptor agonist GW7647. *European Journal of Pharmacology*. 2007;566(1–3):117–119. DOI: 10.1016/j.ejphar.2007.03.007.
16. LoVerme J, Russo R, La Rana G, Fu J, Farthing J, Mattace-Raso G, et al. Rapid broad-spectrum analgesia through activation of peroxisome proliferator-activated receptor- α . *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 2006;319(3):1051–1061. DOI: 10.1124/jpet.106.111385.
17. Ruiz-Medina J, Flores JA, Tasset I, Tunez I, Valverde O, Fernandez-Espejo E. Alteration of neuropathic and visceral pain in female C57BL/6J mice lacking the PPAR- α gene. *Psychopharmacology*. 2012;222(3):477–488. DOI: 10.1007/s00213-012-2662-8.
18. Donvito G, Wilkerson JL, Damaj MI, Lichtman AH. Palmitoylethanolamide reverses paclitaxel-induced allodynia in mice. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 2016;359(2):310–318. DOI: 10.1124/jpet.116.236182.