

О. Є. Ядловський, З. С. Суворова, М. В. Науменко

Особливості застосування методу «Гаряча пластина» у фармакологічних дослідженнях

Державна установа «Інститут фармакології та токсикології
Національної академії медичних наук України», м. Київ

Ключові слова: метод «Гаряча пластина», біль, ноцицепції, аналгезія

Больові синдроми є одними з найрозповсюдженіших патологічних реакцій. Вони часто призводять до важких страждань, інвалідизації та, як наслідок, до зниження якості життя, іноді до загибелі пацієнтів [1–3]. Тому проблема керування болем є однією з найважливіших у сучасній медицині. Серед сучасних методів знеболення одне з центральних місць займає фармакотерапія. Для лікування болю використовується широкий арсенал препаратів зі знеболюючою активністю, провідне місце серед яких займають наркотичні та ненаркотичні аналгетики. Наркотичні аналгетики або опіоїдні аналгетики (морфін, фентаніл, бупренорфін та ін.), незважаючи на ефективність за гострих і хронічних болей великої інтенсивності, мають регламентоване й обмежене застосування, що пов'язано з їхньою здатністю викликати тяжкі побічні реакції (фізична, психічна залежність, пригнічення дихання, наркоманія та ін.). Ненаркотичні аналгетики (аналгетики-антипіретики та нестероїдні протизапальні засоби (НПЗЗ), хоча й не викликають звикання, характеризуються помірною знеболюючою активністю та виявляють широкий спектр побічних реакцій, що звужує сферу їхнього застосування (гепато-, нефро-, гематотоксичність та ін.) [4]. Ад'ювантні аналгетики, знеболюючий ефект яких пов'язаний з впливом на ГАМК-бензодіазепінові, дофамінові, адренергічні, серотонінові, гістамінові та інші рецептори, виявляють значний ефект лише за певних типів болю (невропатичний біль та ін.). Дані препарати застосовуються для купуван-

ня болю, рефрактерного до традиційних знеболюючих препаратів, для зниження доз традиційних аналгетиків, зменшення побічних ефектів і лікування інших симптомів за терапії болю [5]. Тому пошук нових знеболюючих, що переважають за ефективністю та/або безпекою існуючі аналгетики є важливим та актуальним. Для поглибленого вивчення знеболювальної активності в експериментах застосовується низка методик *in vivo*, в яких використовується хімічне, термічне чи механічне ноцицептивне подразнення [4, 6].

Проведення фундаментальних, скринінгових й інших випробувань перед дослідником ставить завдання отримати максимально об'єктивні дані з урахуванням різних факторів, що можуть вплинути на реєстрацію й інтерпретацію результатів.

Мета дослідження – узагальнення й аналіз факторів, які слід враховувати, за проведення тесту «Гаряча пластина».

Пошук літератури проводили в базах наукової інформації та пошукових системах PubMed, MEDLINE (with Full Text), Clinical Key, Google Scholar та BMJ Journals за період 1953–2020 років. Нами обиралися статті та резюме статей, в яких наводилися методологічні підходи щодо вивчення антиноцицептивної активності за допомогою тесту «Гаряча пластина» або вивчалися фактори, що впливають на результати експерименту. Для аналізу нами було обрано дані 42 наукових робіт.

Методи термічної ноцицептивної стимуляції займають одне з провідних місць для вивчення знеболювальної активності в експериментах [6]. Проте ці методи термічного подразнення шкіри не характеризують вісцеральний біль чи ноцицепцію опорно-рухового

апарату. Стимуляція терморецепторів призводить до активації певних ланок ноцицептивної системи – терморецепторів, ноцирцепторів і, нарешті (можливо) «парадоксальних холодкових» рецепторів [7]. Тест «Гаряча пластина» або Hot Plate – це тест для оцінки термічної ноцицептивної реакції в гризунів, який ідеологічно близький до тесту «Відсмикування хвоста» Tail-flick. Дані методи, як правило, застосовуються для оцінки центрального компонента знеболення [8], тоді як препарати периферичної дії в цих тестах не ефективні або мало ефективні [9]. Тест «Гаряча пластина», як правило, використовується в разі фундаментальних досліджень болю, а також скринінгу знеболюючих засобів і вивчення їхньої ефективності [9]. Метод було запропоновано Едді та Леймбахом у 1953 році [10]. У рамках методу використовували поведінкову модель ноцицепції, де дії тварин (стрибки та лизання задніх лап) виникають після подразнюючого теплового стимулу. Облизування вважали швидкою відповіддю на ноцицептивні теплові подразники та характеристикою больового порога. Стрибки характеризували більш складну реакцію з затримкою та включали емоційну складову втечі.

Базова модель апарату/прибору являє собою прозорий скляний циліндр, який використовується для утримання тварини на нагрітій поверхні пластини, як правило, до температури 52,0–55,0 °С. Температура панелі регулюється за допомогою електричного підігрівання або терморегулюючого водяного насосу. Латентний період реакції визначається як період часу між нульовою точкою, коли тварина поміщається на поверхню пластини, і часом, коли тварина облизує лапу або зістрибує, щоб уникнути термічного болю [11, 12]. Після короткого періоду перебування на нагрітій панелі, зазвичай декілька секунд, тварина піднімає та вилузує лапу, оскільки жар поверхні стає для неї некомфортним. Вказується, що лизання задньої лапи є більш надійним критерієм відповіді, ніж облизування передньої лапи, і рекомендується використовувати протягом усього експерименту [13].

Потім тварину негайно виймають з апарата. Залежною перемінною в цьому тесті є час, або затримка лизання лапи. Час реєстрації латентного періоду не повинен перебільшувати 30–60 с (залежно від особливостей досліду) для мінімізування ризику отримання твариною опіків. Введення знеболюючого засобу призводить до збільшення цього інтервалу – реакції тварини на нагріту поверхню [14, 15].

Відомі декілька модифікацій приладу, які ідеологічно не відрізняються від базової моделі, запропонованої Едді та Леймбахом. У цьому аспекті слід навести модифікацію методу, який вивчає термічне подразнення кожної лапи окремо та дає можливість більш оптимально оцінити знеболювальну активність протизапальних засобів у разі моделювання експериментального запалення на одній з лап (карагеніновий набряк, введення PGE2 та ін.) [16].

Крім облизування задньої лапи вказується й на інші критерії (паттерни), що характеризують відповідь тварини на термічне ноцицептивне подразнення, й за якими також можна оцінювати знеболюючу активність досліджуваного засобу. Вони розділені на три основні категорії: реакції обнюхування з пересуванням по пластині, відповідь на пошкоджуючі дії (облизування передньої лапи) та уникання/втікання (вставання на задні лапи, стрибки). Причому вставання на задні лапи вважається незалежним патологічним паттерном тривоги [17].

Робоча температура для вивчення антиноцицептивної активності коливається в діапазоні температури 44,4–59,9 °С. Показано, що відчуття болю в тварини з'являються за температури 44,4 °С. Причому температура навколишнього середовища має знаходитися в межах 18,0–28,0 °С для отримання достовірних показників ноцицепції як у мишей, так і в щурів [18].

Аналгетична активність опіоїдів найвираженіша за 49,5 °С, ніж за стандартної 53,0–55,0 °С. Тому їх не рекомендується вивчати за температури пластини вище ніж 50,0 °С. У той самий час активність антагоністів опіоїдних рецепторів більш виражена за темпера-

тури 54,5 °C, що треба враховувати в разі вивчення сполук даної групи [19, 20]. Літературні дані свідчать, що оптимальною температурою для дослідження активності антагоністів опіоїдних рецепторів (налоксон, налорфін, пентазоцин) є 59,0 °C [21]. Однак одночасно вказується на значний процент травмування тварин, що вносить обмеження у використання даного підходу. Ненаркотичні аналгетики та НПЗЗ, як правило, не ефективні або мало ефективні за температури нагріву пластини ≥ 53 °C [19–22]. Для оцінки антиноцицептивної активності НПЗЗ у тварин з моделюваною патологією (карагеніновий набряк та ін.) найдостовірніші дані реєструються у разі температури, що переважає 51,0 °C [23].

Значну роль у постановці експерименту й отриманні об'єктивних результатів відіграє тест-система. Як вказано вище, для дослідження використовуються як миші, так і щури. Показано, що вага, звикання до випробувальної камери та повторне тестування можуть змінити базу тривалість латентного періоду, але ці ефекти не суттєві та мають порівняно невеликий вплив на антиноцицепцію опіоїдних аналгетиків (морфін та ін.) [24]. Також відомо про залежність реакції тварин від часу доби, в який проводиться експеримент. Показано синусоїдальну залежність тривалості латентного періоду дії (облизування лапи) протягом 24 год. Спостерігається затримка цієї реакції в темну частину доби (до 20 %). Щодо ймовірності реакції стрибка, то вона була максимальною в темний час доби та мінімальною протягом світлого періоду (39 % проти 9 %). Згинання задньої лапи демонструє протилежний паттерн (22 % проти 54 %). Імовірність лизання передніх лап суттєво не змінювалася протягом 24 год [6].

Дискусійним є гендерний компонент у разі вивчення антиноцицептивної активності знеболюючих засобів. Однак більшість авторів вказують на нього, як на не суттєвий у разі оптимального планування експерименту [25]. Показано, що молоді самці щурів менш чутливі до ноцицептивного подразнення за температури ≥ 50 °C. У дорослих самців

і самиць, незалежно від віку, цього не відзначали [26]. Натомість спостерігали збільшення латентного періоду в самців-гризунів після спаровування та в самиць у період еструсу, що вказує на гіпераналгезію. Однак дані реакції також інтерпретують як зміни в емоційному стані тварин [27]. Крім того, не відомо про суттєву різницю реакції тварин залежно від їхньої лінії (за виключенням модифікованих ліній, призначених для вивчення ноцицепції). У тому числі не виявлено суттєвих відхилень чутливості до термічного подразнення ліній мишей FVB/N (дикого типу та нокаутних за р53, гомозиготних і гетерозиготних) порівняно з нелінійними тваринами [28]. Близькі дані отримано за оцінки ноцицепції в мишей лінії NMRInu/nu та NMRI, у тому числі в діапазоні температур 50–55 °C у разі введення тваринам середньоефективних доз морфіну [29]. Поведінка втечі (стрибання, вставання на задні лапи) є найоптимальнішою для тестування мишей лінії C57Bl/6J [30]. У разі повторних вимірювань вихідного (контрольного) значення латентного періоду реакції його величина знижується як у мишей, так і в щурів, на відміну від тесту Tail-flick, що особливо важливо за вивчення сполук з опіоїдним компонентом дії [31]. Так, повторне тестування інтактних тварин (протягом 12 днів) викликає прогресивне збільшення переходів до стрибків та суттєве скорочення переходів між нюханням і рухом, зниження частоти лизання [32]. Дані модифікації зберігаються протягом 6 днів без будь-якої стимуляції. Тому рекомендується аналізувати дані додатково, враховуючи відповідь гризунів на біль за характеристиками втечі (стрибки, вставання на задні лапи).

Метод «Гаряча пластина» рекомендується використовувати для вивчення знеболювальної активності як опіоїдних, так і засобів з неопіоїдним компонентом дії та антагоністів опіоїдних рецепторів. Тому для оцінки та інтерпретації результатів необхідно враховувати певні особливості поведінки тварин. У гризунів (щури) у разі введення морфіну, а потім налоксону спостерігається достовірне

збільшення латентного періоду реакції лизання лапи порівняно з інтактними тваринами. Також показана поведінкова аналгезія та толерантність у тварин за повторних тестувань. Дані зміни більш характерні для щурів, ніж для мишей [33]. Показано, що застосування налоксону й інших антагоністів опіоїдних рецепторів призводить до достовірного зменшення латентного періода стрибка у разі повторних, але не одно-разових введень. Інші поведінкові характеристики полегшуються (поза тварин, витягування задніх кінцівок). Одночасно навчання, звикання та сенсифікація можуть маскувати певні ефекти у разі проведення повторних тестів [34, 35]. Також для опіоїдів характерне збільшення латентного періоду реакцій облизування лапи, для антиагоністів-агоністів опіоїдних рецепторів частіше ступені реєструється зміна поведінки, а саме стрибання та облизування лапи (пентазоцин та ін.), для антагоністів опіоїдів (налоксон) ця фаза проявляється у випригиванні без облизування лапи [36]. Причому характеристики навколишнього середовища не відіграють суттєвої ролі [37]. Показано, що знеболююча дія відомих опіоїдних аналгетиків на даній моделі виявляється вже в середньоефективних дозах, які в декілька разів переважають терапевтичні в людини. У даних концентраціях опіоїди пригнічують різні поведінкові реакції, що не пов'язані зі знеболенням. Тому рекомендується одночасно вивчати седативний ефект сполук для більш об'єктивної оцінки знеболюючої активності [38].

У разі оцінки антиноцицептивних ефектів в ряду неалгезуючих структур результати помітно різняться залежно від використаних кінцевих точок, які треба враховувати в дослідженнях. Клозапін, хлорпромазин, тіоридазин, атропін, скополамін, бенактизин, йохімбін, ідазоксан і ципрогептадин викликали дозозалежне збільшення латентного періоду відповіді за умови врахування тільки лизання задньої лапи, але не збільшували його, коли використовувалися кінцеві точки лизання або стрибка. Галоперидол, сульпірид, бензтропін, метилатропін,

фентоламін, празозин, метіотетпін, метізергід, дифенгідрамін, парглілін і діазепам не збільшують латентний період реакції за умови врахування тільки лизання задньої лапи. Діазепам, хлорпромазин, пентобарбітал, дантролен та етанол призводили до дозозалежного вставання на задні лапи, практично не впливаючи на лизання. Облизування задньої лапи відіграло суттєву роль тільки за умов введення майже анестезуючих доз пентобарбіталу й етанолу. Слід зазначити й той факт, що для сполук бензодіазепінового ряду та ГАМК-ергічних речовин зміни кінцевих точок у більшому ступені пов'язані з седативною та м'язово-релаксуючою дією [39]. Препарати, що впливають на м-холінорецептори, та антагоністи α_2 -адренорецепторів у більшому ступені впливають на інші поведінкові реакції, ніж на лизання, хоча дана кінцева точка також використовується [40]. На противагу цьому, кінцева точка «лизати або стрибати» не може визначити активність міорелаксантів скелетних м'язів – тест виявляє тільки грубі рухові порушення за використання майже анестезуючих доз сполук. Наявні дані свідчать про те, що виявлення неаналгезуючої активності лікарського засобу за допомогою гарячої пластини для щурів можна звести до мінімуму шляхом використання кінцевої точки засувки або стрибка на задніх лапах [41]. Вивчення антиноцицептивного впливу сполук, механізм дії, яких реалізується через медіальну лобну та передню поясну звинину, треба проводили обережно на моделі «Гаряча пластина», оскільки спостерігається порушення інтеграції в разі збільшення теплового ноцицептивного вкладу з моторними реакціями, які необхідні для швидкої реакції тварин у тесті [42].

На нашу думку, оцінку антиноцицептивної активності бажано проводити приблизно в один і той самий час доби, бажано на статевозрілих мишах, з мінімальною кількістю визначень вихідного латентного періоду реакції, з мінімальною кількістю повторних вимірювань для запобігання звикання тварин до подразнення, оцінюючи додатково

**Особливості тестування сполук різних фармакологічних груп на моделі
«Гаряча пластина»**

Група препаратів	Робоча температура, °С	Критерій оцінки	Додатковий фактор
Опіюідні аналгетики	48,5–49,7	Облизування задньої лапи	Толерантність (скорочення латентного періоду) за повторних введень Додаткове оцінювання седативної активності
Агоністи-антагоністи опіюідних рецепторів	48,5–49,7	Стрибки Облизування задньої лапи	Додаткове оцінювання седативної активності
Антагоністи опіюідних рецепторів	54,0–55,0	Стрибки	Скорочення латентного періоду стрибка у разі повторних, але не одно-разових введень
Ненаркотичні аналгетики та нестероїдні протизапальні засоби	53,0–55,0 ≥ 52,0 ¹	Облизування задньої лапи	-
Ад'ювантні аналгетики	53,0–55,0	Облизування задньої лапи ^{2, 4} Стрибки ^{2, 4} Вставання на задні лапи ^{3, 4}	Додаткова оцінка седативної, м'язово-релаксуючої активності

Примітка. ¹За індукції запалення (карагеніновий, каоліновий набряки та ін.), ²адренергічні, холінергічні, антипсихотичні засоби, ³нейролептики, транквілізатори, анксиолітики, м'язові релаксанти, ⁴декілька видів активності.

м'язово-релаксуючу та седативну дії (у разі скринінгу), з врахуванням специфічних критеріїв для сполук різних фармакологічних груп (таблиця).

Висновок

Таким чином, метод «Гаряча пластина» є одним з найадекватніших методів для вивчення центрального компонента

знеболення. Точність та адекватність експериментальних даних залежить від особливостей постановки та регламенту експерименту, врахування специфічних об'єктивних критеріїв, а саме: робочої температури пластини, критеріїв оцінки (стрибки, облизування лап), інших додаткових факторів, визначення належності досліджуваної речовини до певної фармакологічної групи.

1. Боль в спине. Р. Г. Есин, О. Р. Есин, Г. Д. Ахмадеева, Г. В. Салихова. Москва : Медицина, 2010. 272 с.
2. Incidence rates and treatment of neuropathic pain conditions in the general population. J. P. Dieleman, J. Kerklaan, F. J. P. M. Huygen et al. *Pain*. 2008. V. 137, № 3. P. 681–688.
3. Which Treatment for Postherpetic Neuralgia? K. Hempenstall, T. J. Nurmikko, R. W. Johnson et al. *PloS Medicine (PloS Med)*. 2005. V. 2, № 7. P. 238.
4. The pharmacological basis of Therapeutic (9th ed.). A. Goodman, L. Gilman. New York : McGraw-Hill, 1996. Ch. 27. P. 836–932.
5. Каннер Р. Секреты лечения боли: пер. с англ. Москва : «Издательство БИНОМ», 2006. 400 с.
6. Crockett R. S., Bornschein R. L., Smith R. P. Diurnal Variation in Response to Thermal Stimulation: Mouse-Hotplate Test. *Physiol. Behav.* 1977. V. 18, № 2. P. 193–196.
7. Sinclair J. G., Main C. D., Lo G. F. Spinal vs supraspinal actions of morphine on the rat tail-flick reflex. *Pain*. 1988. V. 33. P. 357–362.
8. Carlsson K. H., Jurna I. Depression by Flupirtine, a Novel Analgesic Agent, of Motor and Sensory Responses of the Nociceptive System in the Rat Spinal Cord. *Eur. J. Pharmacol.* 1987. V. 3, № 143 (1). P. 89–99.

9. Vogel Gerhard H. Drug Discovery and Evaluation. Pharmacological Assays Second Completely Revised, Updated, and Enlarged Edition. Springer Verlag Berlin Heidelberg. 2002. 1026 p.
10. Eddy N. B., Leimbach D. Synthetic Analgesics. II. Dithienylbutenyl- And Dithienylbutylamines. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1953. V. 107, № 3. P. 385–393.
11. Mulder G. B., Pritchett K. Rodent Analgesiometry: The Hot Plate, Tail Flick and Von Frey Hairs. *Contemp. Top. Lab. Anim Sci.* 2004. V. 43, № 3. P. 54–55.
12. Huang J. Sweating guarded hot plate test method. *Polymer Testing.* 2006. V. 25, № 5. P. 709–716.
13. Hunskaar S., Berge O. G., Hole K. A modified hot-plate test sensitive to mild analgesics. *Behav. Brain. Res.* 1986. V. 21, № 2. P. 101–108.
14. An improved method for tail-flick testing with adjustment for tail-skin temperature. A. Tjølsen, A. Lund, O. G. Berge, K. Hole. *Journal of Neuroscience Methods.* 1989. V. 26, № 3. P. 259–265.
15. Bannon A. W., Malmberg A. B. Models of nociception: hot-plate, tail-flick, and formalin tests in rodents. *Curr. Protoc. Neurosci.* 2007. Chapter 8 : Unit 8.9.
16. Unilateral Hot Plate Test: A Simple and Sensitive Method for Detecting Central and Peripheral Hyperalgesia in Mice. L. Menéndez, A. Lastra, A. Hidalgo, A. Baamonde. *J. Neurosci. Methods.* 2002. V. 15, № 113 (1). P. 91–97.
17. Espejo E. F. Structure of the rat's behavior in the hot plate test. *Behav. Brain. Res.* 1993. V. 30; 56, № 2. P. 171–176.
18. The Increasing-Temperature Hot-Plate Test: An Improved Test of Nociception in Mice and Rats. A. Tjølsen, J. H. Rosland, O. G. Berge, K. Hole. *J. Pharmacol. Methods.* 1991. V. 25, № 3. P. 241–250.
19. Plone M. A., Emerich D. F., Lindner M. D. Individual differences in the hotplate test and effects of habituation on sensitivity to morphine. *Pain.* 1996. V. 66, № 2–3. P. 265–270.
20. O'Callaghan J. P., Holtzman S. G. Quantification of the Analgesic Activity of Narcotic Antagonists by a Modified Hot-Plate. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1975. V. 192, № 3. P. 497–505.
21. Anker S. I. New Hot Plate Tests to Quantify Antinociceptive and Narcotic Antagonist Activities. *Eur. J. Pharmacol.* 1974. V. 27, № 1. P. 1–4.
22. Espejo E. F., Mir D. Differential Effects of Weekly and Daily Exposure to the Hot Plate on the Rat's Behavior. *Physiol. Behav.* 1994. V. 55, № 6. P. 1157–1162.
23. A Novel Hot-Plate Test Sensitive to Hyperalgesic Stimuli and Non-Opioid Analgesics. T. R. Lavich, R. S. B. Cordeiro, P. M. R. Silva, M. A. Martins. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 2005. V. 38, № 3. P. 445–451.
24. Gunn A., Bobeck E. N., Weber C., Morgan M. M. The Influence of Non-Nociceptive Factors on Hot-Plate Latency in Rats. *Pain.* 2011. V. 12, № 2. P. 222–227.
25. Effect of gender on antinociceptive effect of paroxetine in hot plate test in mice. E. N. Duman, M. Kesim, M. Kadioglu et al. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry.* 2006. V. 30, № 2. P. 292–296.
26. Rochford J., Chatigny S. Male Rats Classified as Copulators and Noncopulators Respond Differentially on the Hot Plate Test. *Physiol. Behav.* 1993. V. 53, № 2. P. 409–411.
27. Saldivar-González A., Fernández-Guasti A. Ejaculation Induced Changes in Escape Latency in the Hot Plate Test: Pharmacological Analysis of Anxiolytic Versus Analgesic Effect. *Behav. Brain. Res.* 1994. V. 28; 60, № 2. P. 191–198.
28. Lötsch J., Tegeder I., Angst M. S., Geisslinger G. Antinociceptive Effects of morphine-6-glucuronide in Homozygous MDR1a P-glycoprotein Knockout and in Wildtype Mice in the Hotplate Test. *Life. Sci.* 2000. V. 5; 66, № 24. P. 393–403.
29. Vermeirsch H., Meert T. F. Morphine-induced Analgesia in the Hot-Plate Test: Comparison Between NMRI(nu/nu) and NMRI Mice. *Basic. Clin. Pharmacol. Toxicol.* 2004. V. 94, № 2. P. 59–64.
30. Differentiating thermal allodynia and hyperalgesia using dynamic hot and cold plate in rodents. I. Yalcin, A. Charlet, M. J. Freund-Mercier et al. *J. Pain.* 2009. V. 10, № 7. P. 767–773.
31. Gårdmark M., Höglund A. U., Hammarlund-Udenaes M. Aspects on Tail-Flick, Hot-Plate and Electrical Stimulation Tests for Morphine Antinociception. *Pharmacol. Toxicol.* 1998. V. 83, № 6. P. 252–258.
32. Learning Influence on the Behavioral Structure of Rat Response to Pain in Hot-Plate. M. Casarrubea, F. Sorbera, A. Santangelo, G. Crescimanno. *Behav. Brain. Res.* 2011. V. 20; 225, № 1. P. 177–183.
33. Bardo M. T., Hughes R. A. Exposure to a Nonfunctional Hot Plate as a Factor in the Assessment of Morphine-Induced Analgesia and Analgesic Tolerance in Rats. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 1979. V. 10, № 4. P. 481–485.
34. Effects of Morphine and Naloxone on Behaviour in the Hot Plate Test: An Ethopharmacological Study in the Rat. E. F. Espejo, L. Stinus, M. Cadour, D. Mir. *Psychopharmacology (Berl).* 1994. V. 113, № (3–4). P. 500–510.
35. Time Dependent Antinociceptive Effects of Morphine and Tramadol in the Hot Plate Test: Using Different Methods of Drug Administration in Female Rats. M. Gholami, E. Saboory, S. Mehraban et al. *Iran. J. Pharm. Res.* 2015. V. 14, № 1. P. 303–311.

36. Janicki P., Libich J. Detection of antagonist activity for narcotic analgesics in mouse hot-plate test. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 1979. V. 10, № 4. P. 623–626.
37. Bardo T., Wellman P. J., Hughes R. A. The role of hot plate and general environmental stimuli in morphine analgesic tolerance. *Pharmacology Biochemistry and Behavior.* 1981. V. 14, № 5. P. 757–760.
38. Yezierski R. P., Vierck C. J. Should the Hot-Plate Test Be Reincarnated? *The Journal of Pain.* 2011. V. 12, № 8. P. 936–937.
39. The effects of diazepam on the behavioral structure of the rat's response to pain in the hot-plate test: Anxiolysis vs. Pain modulation. M. Casarrubea, F. Sorbera, A. Santangelo, G. Crescimanno. *Neuropharmacology.* 2012. V. 63, № 2. P. 310–321.
40. Antinociceptive Activity of Beta-Adrenoreceptor Agonists in the Hot Plate Test in Mice. D. Brochet, J. A. Micó, P. Martin, P. Simon. *Psychopharmacology (Berl).* 1986. V. 88, № 4. P. 527–528.
41. R. B. Differentiating Analgesic and Non-Analgesic Drug Activities on Rat Hot Plate: Effect of Behavioral Endpoint. *Pain.* 1991. V. 47, № 2. P. 211–220.
42. Pastoriza L. N., Morrow T. J., Casey K. L. Medial Frontal Cortex Lesions Selectively Attenuate the Hot Plate Response: Possible Nocifensive Apraxia in the Rat. *Pain.* 1996. V. 64, № 1. P. 11–17.

О. Є. Ядловський, З. С. Суворова, М. В. Науменко
Особливості застосування методу «Гаряча пластина» у фармакологічних дослідженнях

Фармакологічні та скринінгові дослідження знеболюючих засобів потребують адекватної реєстрації, оцінки й інтерпретації експериментальних даних. Для цього потрібно враховувати особливості методології експерименту, досліджуваних речовин, впливу внутрішніх і зовнішніх факторів.

Мета дослідження – узагальнення й аналіз факторів, що впливають на результати тестування знеболювальної активності за допомогою методу «Гаряча пластина».

Наведено дані щодо фізіологічних реакцій на ноцицептивне подразнення лабораторних тварин на моделі «Гаряча пластина», особливостей реакції їхнього організму на введення лікарських засобів різних фармакологічних груп у рамках експерименту. Вказується, що найадекватніша тест-система для вивчення антиноцицептивної активності в рамках методу – миші та щури.

Найбільша анальгетична активність опіоїдів в експерименті реєструється за температури 49,5–50,0 °C, але не стандартної – 53,0–55,0 °C. Активність антагоністів опіоїдних рецепторів більш виражена за температури 54,5 °C. Оптимальна температура для тестування ненаркотичних анальгетиків та НПЗЗ складає $\geq 53,0$ °C.

Критерії анальгезії розділені на три основні категорії: реакції обнюхування з пересуванням по пластині, відповідь на пошкоджуючу дію (облизування передньої/задньої лапи) та уникнення/втікання (вставання на задні лапи, стрибки). У разі вивчення ад'ювантних анальгетиків необхідно враховувати специфічні механізми дії. Для сполук бензодіазепінового ряду та ГАМК-ергічних речовин зміни кінцевих точок пов'язані з седативною та м'язово-релаксуючою дією, холінергічні засоби та антагоністи α_2 -адренорецепторів у більшому ступені впливають на поведінкові реакції.

Таким чином, метод «Гаряча пластина» є одним з найадекватніших методів для вивчення центрального компонента знеболення. Точність та адекватність експериментальних даних залежить від особливостей постановки та регламенту експерименту, врахування специфічних об'єктивних критеріїв, а саме: робочої температури пластини, критеріїв оцінки (стрибки, облизування лап) та інших додаткових факторів.

Ключові слова: метод «Гаряча пластина», біль, ноцицепції, анальгезія

О. Е. Ядловский, З. С. Суворова, М. В. Науменко
Особенности применения метода «Горячая пластина» в фармакологических исследованиях

Фармакологические и скрининговые исследования обезболивающих средств требуют адекватной регистрации, оценки и интерпретации экспериментальных данных. Для этого необходимо учитывать особенности методологии эксперимента, исследуемых веществ, влияние внутренних и внешних факторов.

Цель исследования – обобщение и анализ факторов, которые влияют на проведение тестирования обезболивающей активности с помощью метода «Горячая пластина».

Приведены данные относительно физиологических реакций на ноцицептивное раздражение лабораторных животных в тесте «Горячая пластина», особенностей реакции их организма на введение лекарственных средств различных фармакологических групп в рамках эксперимента. Указывается, что наиболее адекватные тест-системы для изучения антиноцицептивной активности в рамках метода – мыши и крысы. Наиболее выраженная анальгетическая активность опииодов проявляется при температуре 49,5–50,0 °C, но не при стандартной температуре 53,0–55,0 °C. Активность антагонистов опииодных рецепторов более выражена при 54,5 °C. Оптимальная температура

ратура для изучения ненаркотических анальгетиков и НПВС ≥ 53 °C.

Критерии анальгезии разделяются на три основные категории: реакции обнюхивания при передвижении по пластине, ответ на раздражающее действие (облизывание передней/задней лапы), избегание/бегство (подъем на задние лапы, прыжки). При изучении адьювантных анальгетиков следует учитывать специфические механизмы действия. Для соединений бензодиазепинового ряда и ГАМК-эргических веществ изменения конечных точек связаны с седативным и мышечно-релаксирующим действием; холинергические средства и антагонисты α_2 -адренорецепторов в большей степени влияют на поведенческие реакции.

Таким образом, метод «Горячая пластина» является одним из адекватных методов для изучения центрального компонента обезболивания. Точность и адекватность экспериментальных данных зависит от особенностей постановки и регламента эксперимента, учета специфических объективных критериев, а именно, рабочей температуры пластины, критериев оценки (прыжки, облизывание лап), других дополнительных факторов, принадлежности исследуемого вещества к той или иной фармакологической группе.

Ключевые слова: метод «Горячая пластина», боль, ноцицепция, анальгезия

O. E. Yadlovskiy, Z. S. Suvorova, M. V. Naumenko

Particular features of the use of «Hot plate» test in pharmacological researches

Pharmacological and screening studies of analgesics require adequate registration, evaluation and interpretation of experimental data. For this, it is necessary to account for particular features of experiment methodology, studied compounds, influence of internal and external factors.

The aim of the study – to summarize and analyze factors, which influence on the results of analgesic activity at «Hot plate» test.

It is indicated, that most adequate test system for antinociceptive activity studies – mice and rats. Most pronounced analgesic activity of opioids in experiments is registered in 49,5–50,0 °C, but not in the standard 53,0–55,0 °C. Activity of opioid receptor antagonists is more pronounced of 54,5 °C. Optimal temperature for non narcotic analgesics and NSAIDs is $\geq 53,0$ °C.

Criteria of analgesia are split in three basic categories: snorting reactions (sniffing, walking on the plate), response to damaging effects (licking of front/rear paw) and avoidance/escaping (standing on rear paws, jumps). During studies of adjuvant analgesics, their specific mechanisms of action must be accounted. For benzodiazepine line and GABA-ergic compounds changes in end points are related to sedative and muscle relaxant action, cholinergic drugs and α_2 -adrenoreceptor antagonists mostly influence other behavioral reactions rather than licking.

Thus, the «Hot plate» test is one of the most adequate methods for studying the central component of anesthesia. The accuracy and adequacy of experimental data depend on the peculiarities of the formulation and regulations of the experiment, taking into account specific objective criteria, namely operating temperature of the plate, evaluation patterns (jumps, licking paws) and other additional factors.

Key words: «Hot plate» test, pain, nociception, analgesia

Надійшла: 1 червня 2020 р.

Прийнята до друку: 9 липня 2020 р.

Контактна особа: Ядловський О. Є., ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМНУ», буд. 14, вул. Антона Цедіка, м. Київ, 03057. Тел.: + 38 0 44 456 42 56.