

УДК 591.1: 615.849.11

МОДИФИЦИРУЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЯ ГИПОКИНЕТИЧЕСКОГО СТРЕССА НА ИЗМЕНЕНИЕ БОЛЕВОЙ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ КРЫС В ТЕСТЕ ЭЛЕКТРОСТИМУЛЯЦИИ

Чуян Е.Н., Заячникова Т.В.

Проблема боли занимает одно из центральных мест в современной физиологии и медицине и является предметом широкомасштабного междисциплинарного исследования. Однако экспериментальное изучение болевой чувствительности у людей и животных наталкивается на многочисленные специфические трудности. Во-первых, практически все стимулы, повреждающие ткань, вызывают боль, поэтому нельзя выделить какой-либо один стимул, адекватный для боли. Во-вторых, в связи с субъективной оценкой боли человеком и невозможностью точно определить её интенсивность, многие аспекты количественного определения болевой чувствительности не исследованы. Решению данных проблем способствуют эксперименты на животных, которые позволяют количественно оценить интенсивность боли при отсутствии психогенного фактора, сопровождающего исследование болевых реакций у человека.

Известно, что интенсивность боли зависит не только от силы стимула, но и от функционального состояния организма, баланса активностей ноцицептивной и антиноцицептивной систем. Различные факторы, в том числе и стрессорные, вызывают изменение уровня болевой чувствительности организма [1]. Одним из широко распространенных в настоящее время стресс-факторов, вызывающих ряд изменений в функционировании практически всех органов и систем организма, является ограничение подвижности – гипокинезия (ГК) [2]. В наших предыдущих исследованиях показано модифицирующее влияние ГК стресса на изменение болевой чувствительности животных при экспериментально вызванных тонической [3], висцеральной [4] и острой термической боли [5]. Однако модифицирующее влияние ГК стресса на уровень болевой чувствительности при экспериментальной острой боли, вызванной электрорадражением, не изучено.

В связи с вышеизложенным, целью данной работы явилось изучение модифицирующего действия ГК стресса на изменение уровня болевой чувствительности у крыс при острой боли, моделируемой в тесте электростимуляции (ТЭС).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Экспериментальные исследования выполнены на 30 взрослых белых крысах-самцах линии Вистар массой 180-200 грамм, полученных из питомника научно-исследовательского института биологии Харьковского национального университета им. В.Н. Каразина. Для экспериментов отбирали животных со средним уровнем двигательной активности и низкой эмоциональностью, определяемых в тесте «открытого поля», которые, согласно нашим [6] и литературным данным [7], преобладают в популяции, поэтому у них развивается типичная реакция на любые воздействия.

Предварительно отобранных животных разделили на две равноценные группы по 15 особей в каждой. Животные первой и второй групп подвергались воздействию экспериментально вызванной острой боли в ТЭС ежедневно в течение 9-ти суток.

ТЭС является одним из распространенных методов стимуляционной алгометрии, широко применяемых в анестезиологии [8]. В нашем исследовании крысу помещали в камеру из оргстекла 20х30х20 см, пол у которой был изготовлен из медной проволоки, через которую пропускали электрический ток с помощью генератора Г5-82 (свидетельство о проверке рабочего средства измерительной техники № 024537 от 14.07.2007), создающего прямоугольные одинарные импульсы длительностью 10 мс с частотой 40 Гц. Показателем болевой чувствительности в данном тесте являлся болевой порог (БП), за который принимали минимальную силу тока (в миллиамперах, мА), при которой регистрировались первые болевые реакции у животных – отдергивание конечности или подскок. БП определялся у животного три раза подряд с интервалом в три минуты, затем вычисляли среднее арифметическое из трех измерений.

Животные первой группы (ТЭС) составляли контроль и подвергались изолированному действию болевого фактора. Ко второй группе (ГК+ТЭС) относились крысы, которых предварительно подвергали ГК стрессу, который моделировался помещением крыс в специальные пеналы из оргстекла, в которых они находились по 22 часа ежедневно в течение 9-ти суток. Известно, что такие клетки обеспечивают существенное ограничение подвижности животных по всем направлениям и вызывают стрессовую реакцию [2].

Для количественной оценки модифицирующего влияния ГК стресса на уровень болевой чувствительности крыс использовался коэффициент модификации (КМ; усл. ед.):

$$KM = \frac{BP_2 - BP_1}{BP_1},$$

где BP_1 – значения БП у крыс первой группы, подвергнутых изолированному действию болевого фактора; BP_2 – значение БП у крыс второй группы, подвергнутых последовательному действию ГК и болевого стресса. В случае если КМ приближается к нулевому значению, модифицирующее влияние изучаемого фактора отсутствует.

Учитывая тот факт, что у грызунов БП в течение суток не постоянен [9], эксперименты проводились в одно и то же время светлой половины суток (с 9.00 до 11.00 часов).

После проверки экспериментальных данных на нормальность распределения статистический анализ результатов проводили с помощью параметрических методов. В качестве критерия оценки достоверности наблюдаемых изменений использовали t-критерий Стьюдента. Обработка результатов производилась на ПК с использованием стандартных статистических программ.

Эксперименты проводились с соблюдением принципов «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, которые используются для экспериментальных и других научных целей» (Страсбург, 1986) и постановления первого национального конгресса по биоэтике (Киев, 2001).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты проведенного исследования свидетельствуют о том, что при воздействии острого электроболевого стресса у животных первой группы (ТЭС) БП в течение 9-и суток эксперимента изменялся незначительно и находился в пределах от 180 ± 10 мА до 400 ± 50 мА (рис. 1).

У крыс, предварительно подвергавшихся ГК стрессу (ГК+ТЭС) происходило достоверное изменение БП по сравнению со значениями данного показателя у животных контрольной группы. Однако направленность этих изменений зависела от продолжительности ограничения подвижности.

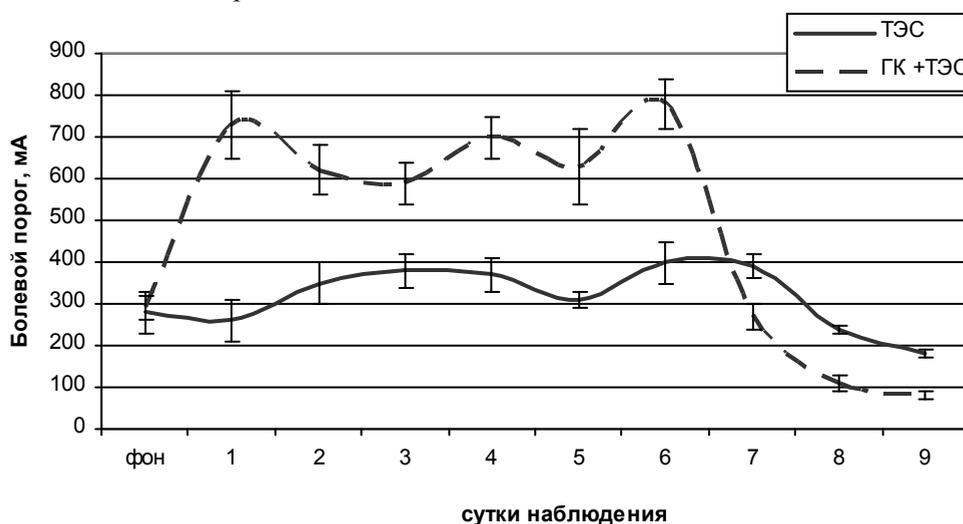


Рис. 1. Динамика болевого порога (мА) у крыс, подвергнутых изолированному (ТЭС) и комбинированному с гипокинетическим стрессом (ГК + ТЭС) действию болевого стресса в тесте электростимуляции в течение девяти суток наблюдения.

Так, у животных, подвергнутых, комбинированному действию ГК и болевого стрессов с 1-х по 6-е сутки наблюдения регистрировалось, увеличение БП

относительно данных у животных контрольной группы, наиболее выраженное после 1-х суток ГК (на 180,77 %; $p < 0,01$) (рис. 1). Однако с 7-х по 9-е сутки эксперимента у животных данной группы отмечалось уменьшение БП в среднем на 53,17 % ($p < 0,05$) относительно значений у животных, подвергнутых изолированному электроболевому воздействию.

Таким образом, результаты проведенного исследования показали разнонаправленные изменения уровня болевой чувствительности в ТЭС в зависимости от продолжительности ГК стресса, что подтверждает и динамика КМ, который с 1-х по 6-е сутки наблюдения был положительным, а с 7-х по 9-е сутки – отрицательным (рис. 2). При этом максимальное значение КМ имел после 1-х суток (1,81 усл. ед.), а минимальное – после 8-х суток (-0,55 усл.ед.) ограничения подвижности.

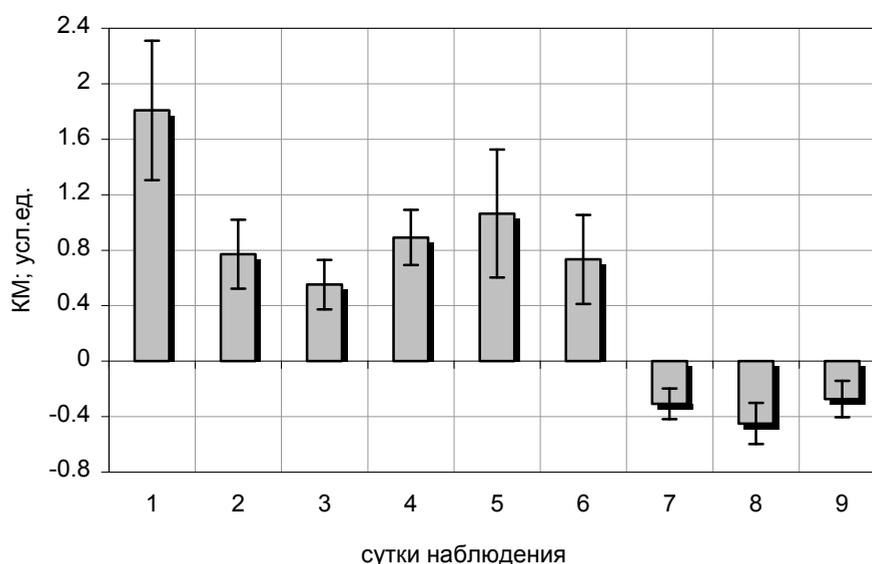


Рис. 2. Изменение коэффициента модификации (КМ, усл. ед.) гипокинетического стресса на уровень болевой чувствительности у крыс при действии острой боли в разные сроки наблюдения.

Полученные данные согласуются с результатами наших предыдущих исследований [3-5], в которых показано, что при экспериментально вызванных тонической, висцеральной и острой термической боли непродолжительный (до 7-и суток) ГК стресс вызвал достоверное уменьшение продолжительности болевых реакций и увеличение БП и уровня выносливости боли у животных в «формалиновом», «уксусном» тестах и тесте «горячая пластинка». Эти результаты согласуются и с литературными данными, в которых показано, что у животных, перенесших острый иммобилизационный стресс, БП увеличился более чем вдвое [10].

Таким образом, при непродолжительном ГК стрессе (до 6-7 суток) реализуется аналгетический эффект при последующем болевом воздействии, а возможно, и другие эффекты, ограничивающие стрессорные повреждения. По-видимому, при

непродолжительном ГК стрессе в организме крыс развивается перекрестная или кросс-адаптация. Это означает, что адаптация к какому-либо стрессору, в частности к ГК, может не только повышать устойчивость организма к действию данного стрессора, т.е. вызывать прямой защитный эффект, но и увеличивать устойчивость к действию других стрессоров [11], в данном случае к болевому.

Однако при продолжительном ГК стрессе (7-9 сутки) в ТЭС, а также предыдущих работах при экспериментальной тонической, висцеральной и острой термической боли [3-5] произошло увеличение продолжительности болевых реакций, уменьшение БП и уровня выносливости боли, что свидетельствует об уменьшении резистентности к болевому стрессу. Из литературных источников известно, что 9-и суточное ограничение подвижности у крыс соответствует стадии тревоги ГК стресса [12, 13]. При этом наблюдается значительное увеличение активности стресс-реализующих систем (симпатоадреналовой и гипоталамо-гипофизарно-адреналовой) [14, 15] и снижение активности стресс-лимитирующих систем организма, (опиод-, серотонин-, дофамин-, ГАМК-ергических систем [16, 17], которые играют значительную роль не только в развитии стресс-реакции, но и в регуляции болевой чувствительности [18]. Следовательно, при интенсивной и/или длительной стресс-реакции основные адаптивные эффекты трансформируются в повреждающие и могут стать основой стрессорных болезней.

Таким образом, данные настоящего и предыдущего исследований [3-5] показали, что ГК стресс обладает модифицирующим действием при болевых стрессах различной этиологии. Известно, что в механизме развития острого болевого синдрома, включающего в себя эмоциональную реакцию на боль, ведущую роль играют центральные механизмы формирования болевой реакции. При моделировании висцеральной боли в «уксусном тесте» на первый план выступают гуморальные механизмы болевой чувствительности. В случае же использования «формалинового теста», имитирующего хроническое болевое раздражение в результате образования воспалительного процесса в тканях и изменения функции нейронов дорсальных рогов спинного мозга главную роль играют центральные механизмы афферентации в условиях ноцицепции и антиноцицепции [18, 19].

Следовательно, полученные результаты свидетельствуют от определенной универсальности модифицирующих эффектов ГК стресса в отношении болевой чувствительности животных.

ВЫВОДЫ

1. Гипокинетический стресс модифицирует уровень болевой чувствительности у животных, что проявляется в изменении болевого порога при экспериментальном электроболевым воздействием.

2. Направленность изменений болевой чувствительности у крыс в тесте электростимуляции зависит от продолжительности гипокинетического стресса: при адаптации крыс к непродолжительному гипокинетическому стрессу (первые 6 суток ограничения подвижности) повышается резистентность к болевому стрессу, что выражается в увеличении болевого порога, при продолжительном ограничении

подвижности (7-9 сутки), напротив, происходит уменьшение болевого порога, что свидетельствует об увеличении болевой чувствительности.

Список литературы

1. Пшенникова М.Г. Роль опиоидных пептидов в реакции организма на стресс // Пат. физиология и экспериментальная медицина. – 1987. – № 3. – С. 85-90.
2. Коваленко Е.А., Гуровский Н.Н. Гипокинезия. – М.: Медицина, 1980. – 307 с.
3. Чуян Е.Н., Заячникова Т.В. Модификация поведенческих реакций у крыс с экспериментально вызванной тонической болью с помощью гипокинетического стресса // Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Серия «Биология, химия». – 2005. – Т. 18 (57), № 2. – С. 192-198.
4. Чуян Е.Н., Заячникова Т.В., Трибрат Н.С. Гипокинетический стресс модифицирует болевую чувствительность у крыс при экспериментально вызванной висцеральной боли // Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Серия «Биология, химия». – 2006. – Т. 19 (58), № 3. – С. 108-120.
5. Чуян Е.Н., Заячникова Т.В. Модифицирующее действия гипокинетического стресса на изменение болевой чувствительности крыс в тесте «горячая пластинка» // Проблемы, достижения и перспективы развития медико-биологических наук и практического здравоохранения. – 2006. – Т. 142, часть 3. – С. 178-181.
6. Чуян Е.Н. Влияние миллиметровых волн нетепловой интенсивности на развитие гипокинетического стресса у крыс с различными индивидуальными особенностями. Автореф. дис. ... канд биол.наук: 03.00.13 / Симферопольский гос. ун-т, 1992. – 22 с.
7. Сантана Вега Л. Роль индивидуальных особенностей двигательной активности в развитии гипокинетического стресса у крыс: Автореф. дис...канд. биол. наук: 03.00.13 / СГУ. – Симферополь, 1991. – 21 с.
8. Василенко А.М.: Тензоалгометрия // Боль и ее лечение. – 1997.– №6.– С.56-75.
9. Golombek D.A., Escobar E., Burin L.J. et al. Time-dependent melatonin analgesia in mice: inhibition by opiate or benzodiazepine antagonist // Eur. J. Pharmacol. – 1991. –Vol. 194, № 1. – P. 25-30.
10. Olivero A., Castellano C., Puglisi-Allegra S. Anticonvulsant effects of stress: role of endogenous opioids // Brain Research. – 1983. – Vol. 271. – P 193-195.
11. Меерсон Ф.З. Физиология адаптационных процессов. – М.: Наука, 1986. – 635 с.
12. Португалов В.В., Ильина - Какуева Е.И., Старостин В.И., Рохленко К.Д., Савик З.Ф. Структурные и цитохимические изменения скелетных мышц при ограничении подвижности // Арх. Анат., гистол., эмбриол. – 1971. Т. 61, № 11. – С. 82-90.
13. Михайлов А.В. Функциональная морфология нейтрофилов крови крыс в процессе адаптации к гипокинезии: Автореф. дис... канд. биол. наук: СГУ. – Симферополь, 1985. – 25 с.
14. Мальгина В.И. Симпатоадреналовая система крыс при адаптации к гипокинезии: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Симферополь, 1989. – 23 с.
15. Чуян Е.Н., Заячникова Т.В. Модифицирующее действие гипокинетического стресса на изменение активности симпатоадреналовой системы при инфузии крыс // Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Серия «Биология, химия». – 2005. – Т. 18 (57). – № 3. – С. 198-205.
16. DeFeudis F. V. Muscimol and GABA-receptors, basic studies and therapeutic implications // Rev. Appl. Pharmacol. Sci. – 1982. – Vol. 3. – P. 319-379.
17. Пшенникова М.Г. Феномен стресса. Эмоциональный стресс и его роль в патологии // Пат. физиол. – 2001. – №2. – С. 26-30.
18. Брагин Е.О. Нейрохимические механизмы регуляции болевой чувствительности – М.: Изд-во Ун-та дружбы народов, 1991. – 248 с.
19. Калужный Л. В. Физиологические механизмы регуляции болевой чувствительности. – М.: Медицина, 1984. – 216 с.

Поступила в редакцию 10.12.2006 г..