

УДК 57.043

МОДИФИЦИРУЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ ГИПОКИНЕТИЧЕСКОГО СТРЕССА НА ИЗМЕНЕНИЕ БОЛЕВОЙ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ КРЫС (ЧАСТЬ 1)

Чуян Е. Н., Заячникова Т. В., Раваева М. Ю., Миронюк И. С., Бирюкова Е. А.

*Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», Симферополь, Республика Крым, Россия
E-mail: m-ravaeva@rambler.ru*

Исследовано модифицирующее действие гипокинетического стресса на изменение поведенческих феноменов у крыс при экспериментально вызванных тонической соматической, висцеральной, острой термической боли и электростимуляции. Показано, что гипокинетический стресс модифицирует болевую чувствительность у животных при болевых стрессах различной этиологии. Однако модификация болевой чувствительности у крыс в экспериментальных болевых тестах зависит от продолжительности ограничения подвижности.

Ключевые слова: гипокинетический стресс, поведенческие реакции, тоническая боль, висцеральная боль, острая термическая боль, электростимуляция.

ВВЕДЕНИЕ

Боль представляет собой крайне сложный феномен, образуемый переплетением анатомического, психического, физиологического, биохимического и социального компонентов, каждый из которых включает в себя целый ряд составных элементов [1–3].

Экспериментальное исследование боли у людей наталкивается на многочисленные трудности. Во-первых, практически все стимулы, повреждающие ткань, вызывают боль, поэтому нельзя выделить какой-то один стимул, адекватный для боли. Во-вторых, в связи с субъективной оценкой интенсивности боли человеком многие аспекты количественного определения болевой чувствительности не исследованы. В-третьих, интенсивность болевых реакций зависит не только от величины стимула, но и от функционального состояния организма. Например, в экстремальных ситуациях эмоционального стресса (несчастный случай) человек может и вовсе не почувствовать боли.

Решению данных проблем могут способствовать, с одной стороны, эксперименты на животных, которые позволяют количественно оценить интенсивность боли при отсутствии психогенного фактора, сопровождающего исследования болевых реакций у человека, а, с другой стороны, изучение модифицирующего действия различных факторов, в том числе и стрессорных, на изменение болевой чувствительности. Одним из широко распространенных в настоящее время и вызывающих ряд изменений в функционировании практически всех органов и систем организма стресс-факторов является гипокинезия (ГК,

ограничение подвижности) [4]. Вместе с тем модифицирующее влияние ГК стресса на уровень болевой чувствительности остается неизученным.

В связи с этим целью настоящего исследования явилось изучение модифицирующего действия ГК стресса на изменение поведенческих реакций крыс при болевых стрессах различной этиологии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование выполнено на взрослых белых крысах-самцах ($n = 224$) линии Вистар массой 180–220 грамм. Для экспериментов отбирали животных со средним уровнем двигательной активности и низкой эмоциональностью, определяемых в тесте «открытого поля», которые, согласно нашим [5] и литературным [6] данным, преобладают в популяции. Поэтому можно утверждать, что именно у этих животных развивается наиболее типичная реакция на любое воздействие.

Предварительно отобранных животных распределили на 8 равноценных групп. Животные первой (ФТ) ($n = 36$), третьей (АТ) ($n = 25$), пятой (ТГП) ($n = 36$), седьмой (ТЭС) ($n = 15$) групп подвергались изолированному действию болевого фактора. Болевой стресс у животных моделировался с помощью разных экспериментальных болевых тестов: формалиновый (ФТ) (моделирование тонической соматической боли), ацетатный (АТ) (моделирование висцеральной боли), горячей пластинки (ТГП) и электростимуляции (ТЭС) (моделирование острой боли). Животные второй ($n = 36$) (ГК+ФТ), четвертой ($n = 25$) (ГК+АТ), шестой ($n = 36$) (ГК+ТГП) и восьмой ($n = 15$) (ГК+ТЭС) групп предварительно подвергались действию ГК стресса, который создавался помещением крыс в специальные пеналы из оргстекла, состоящие из пяти ячеек, в которых они находились в течение девяти суток по 22 часа ежедневно [4].

У животных первой (ФТ) и второй (ГК+ФТ) групп экспериментально вызывали тоническую боль путем подкожной инъекции 5%-ного раствора формалина (0,08 мл на 100 грамм веса) (формалиновый тест) [7] в дорсальную поверхность стопы задней конечности крыс. У крыс третьей (АТ) и четвертой (ГК+АТ) групп вызывали висцеральную боль интраперитонеальной инъекцией 2 % раствора уксусной кислоты (1 мл на 100 грамм веса) [8].

После инъекции каждую крысу из второй – четвертой групп возвращали в свою клетку и с помощью специальной компьютерной программы [9] регистрировали на протяжении 90 минут продолжительность поведенческих проявлений. Показателями интенсивности болевой реакции у крыс при экспериментально вызванной тонической соматической боли служили продолжительность вылизывания пораженной конечности, а при висцеральной боли – длительность характерных болевых реакций («корчей») и лизания живота. В качестве характеристик неболевых поведенческих феноменов рассматривались продолжительности двигательной активности и пассивного поведения. При этом двигательная активность оценивалась по сумме времени перемещения животных по клетке (собственно локомоции) и времени, затраченного животными на принятие пищи и груминг. Длительность пассивного поведения вычислялась как сумма времени, затраченного животными на покой в состоянии бодрствования и сон.

Животные пятой (ТГП) и шестой групп (ГК+ТГП) подвергались термическому воздействию в тесте «горячая пластинка» [10]. Показателями уровня болевой чувствительности служили болевой порог (БП) – минимальная температура, при которой появлялись первые болевые реакции у животных (отдергивание и лизание конечностей) и уровень выносливости боли (УВБ), когда при постепенном повышении температуры контактного элемента ($0,1^{\circ}\text{C} / 2 \text{ с}$) наблюдалось развитие другого вида ноцицептивного возбуждения, сопровождавшегося максимальным усилением эмоционально-поведенческих проявлений, а именно генерализованной двигательной реакцией побега, прыжка и вокализации [11, 12].

Животных седьмой (ТЭС) и восьмой (ГК+ТЭС) групп подвергали воздействию острой боли в тесте «электростимуляция» [13]. Уровень болевой чувствительности определяли по показателю БП (в миллиамперах, мА) – реакции отдергивания конечности или подскока.

БП и УВБ определялся в ТГП и ТЭС у каждого животного три раза подряд с интервалом в три минуты, затем вычисляли среднее арифметическое из трех измерений.

Учитывая тот факт, что у грызунов болевой порог в течение суток варьирует [14], эксперименты проводились в одно и то же время светлой половины суток (с 9.00 до 11.00 часов).

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

$$KM = \frac{X_{2k} - X_k}{X_k}, \quad (1)$$

где X_k – значение уровня болевой чувствительности у крыс, подвергнутых изолированному действию болевого фактора; $X_{ГК}$ – значение уровня болевой чувствительности у крыс, подвергнутых последовательному действию ГК и болевого стресса. В случае если КМ приближается к нулевому значению, модифицирующее влияние изучаемого фактора отсутствует.

После проверки на нормальность распределения, обработку и анализ экспериментальных данных 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.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

1. Модифицирующее действие гипокинетического стресса на изменение болевой чувствительности у крыс при экспериментально вызванной тонической соматической боли. Как показали результаты исследования, у животных второй группы (ГК+ФТ) болевой стресс на ограничения подвижности вызвал достоверные изменения продолжительностей болевой и неболевых поведенческих проявлений. Так, уже после суточной ГК продолжительность болевой реакции уменьшилась на 44,94 % ($P < 0,05$) относительно значений у животных, подвергнутых изолированному действию болевого стресса (ФТ) в первые сутки наблюдения (рис. 1, А).

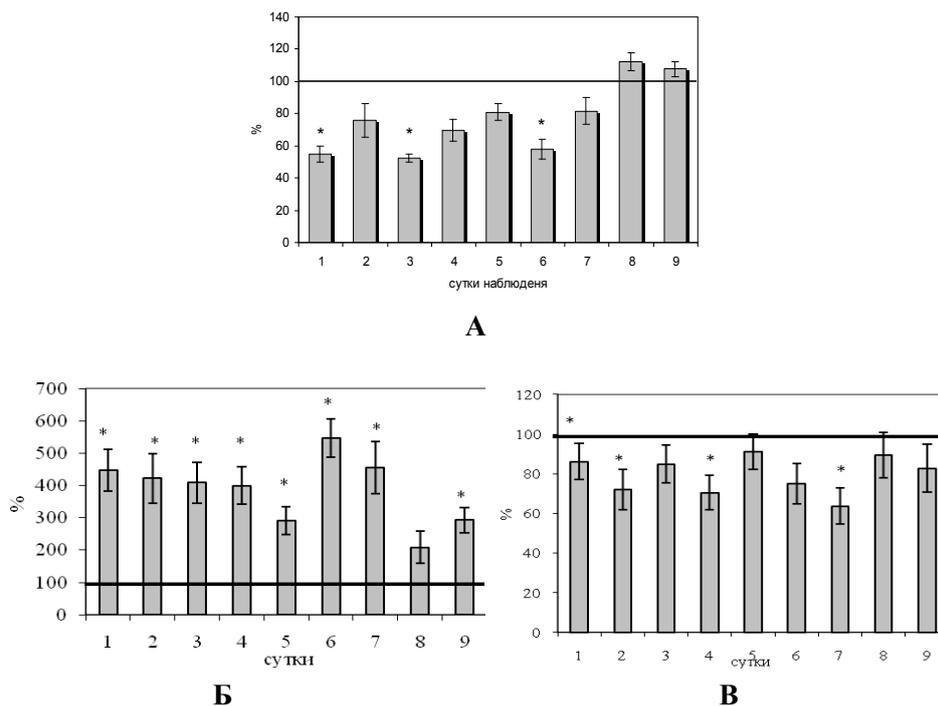


Рис. 1. Динамика продолжительностей болевой реакции (А), двигательных (Б) и пассивных (В) неболевых поведенческих феноменов у крыс в формалиновом тесте в течение девяти суток гипокинезии (за 100 % приняты значения у животных в группах с изолированным воздействием болевого фактора).

Примечание: * – достоверность различий относительно значений у животных, подвергнутых изолированному болевому стрессу.

Продолжительность неболевых поведенческих феноменов, напротив, увеличилась: длительность реакции принятия пищи возросла в 15,67 раза ($P < 0,001$), бега – в 1,63 раза ($P < 0,01$), груминга – в 2,11 раза ($P < 0,05$), а сна, напротив, уменьшилась в 4,88 раза ($P < 0,01$) относительно значений данных показателей у животных первой группы (ФТ) (рис. 1, Б).

После вторых суток ограничения подвижности продолжительность болевой реакции имела тенденцию к уменьшению (на 24,21 %; $P > 0,05$) относительно значений этого показателя у животных, подвергшихся только инъекции формалина. Длительность двигательной активности при этом увеличилась на 321,68 % ($P < 0,001$), а пассивного поведения, напротив, уменьшилась на 13,93 % ($P < 0,05$) относительно значений этих показателей у животных первой группы (рис. 1, Б).

Максимальное уменьшение продолжительности болевой реакции отмечалось на третьи (на 47,49 %; $P < 0,05$) и шестые (на 41,99 %; $P < 0,05$) сутки ограничения подвижности относительно значений этого показателя у животных первой группы (ФТ) (рис. 1, А). В динамике изменения продолжительности неболевых поведенческих проявлений максимальное увеличение длительности двигательной

активности отмечалось на шестые сутки наблюдения (на 446,59 %; $P < 0,001$) относительно значений таковых у животных первой группы. Максимальное уменьшение продолжительности пассивного поведения регистрировалась на седьмые сутки эксперимента (на 36,27 %; $P < 0,05$) относительно значений соответствующих показателей у крыс, которые дополнительному воздействию ГК стресса не подвергались (ФТ) (рис. 1, Б, В).

Начиная с седьмых суток ГК отмечалась тенденция к повышению продолжительности болевой реакции (рис. 1, А). Так, на восьмые и девятые сутки наблюдения продолжительность болевой реакции превышала значения этого показателя у животных первой группы на 12,06 % ($P > 0,05$) и 7,85 % ($P > 0,05$) соответственно (рис. 1, А). Изменилась и длительность неболевых поведенческих феноменов: двигательная активность увеличилась в среднем на 219,00 % ($P < 0,01$), а пассивного поведения имела тенденцию к уменьшению относительно значений у животных, подвергнутых изолированному действию болевого стресса (ФТ) (рис. 1, Б, В). Однако по сравнению со значениями данных показателей у животных второй группы (ГК+ФТ), зарегистрированных на седьмые сутки наблюдения, продолжительность двигательной активности на восьмые – девятые сутки уменьшилась в среднем на 150,81 % ($P < 0,001$), длительность пассивного поведения, напротив, увеличилась в среднем на 14,01 % ($P > 0,05$) (рис. 1, Б, В).

Таким образом, как показали результаты исследования, ГК стресс оказывал модифицирующее действие на уровень болевой чувствительности крыс при тонической боли. Однако данный эффект зависел от продолжительности ограничения подвижности. В ранние сроки ГК стресса (первые – шестые сутки) отмечалось уменьшение болевой чувствительности, а в более поздние сроки ГК (седьмые – девятые) – напротив, увеличение, что подтверждает и динамика КМ. Данный показатель с первых по седьмые сутки составлял в среднем -0,35 усл. ед., а с восьмых по девятые сутки + 0,08 усл. ед. (рис. 2).

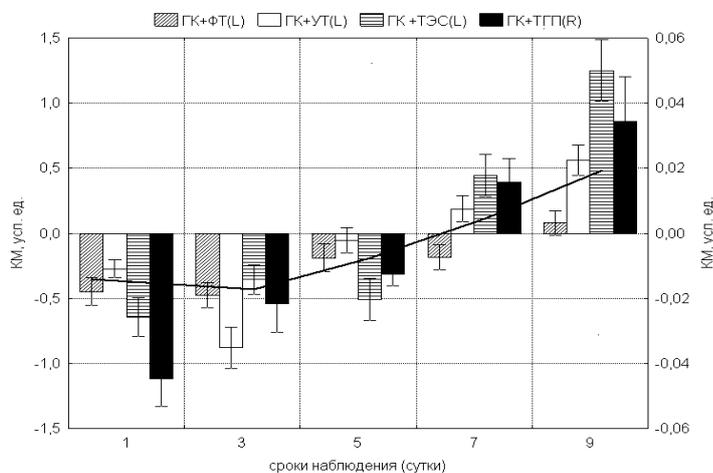


Рис.2. Динамика коэффициента модифицирующего действия (КМ, усл. ед.) гипокинетического стресса на болевую чувствительность у животных при

экспериментально вызванных тонической (ГК+ФТ), висцеральной (ГК+УТ) боли, электростимуляции (ГК+ТЭС) (левая шкала [L]) и острой термической (ГК+ТПП) боли (правая шкала [R]) у крыс в течение девяти суток наблюдения.

2. Модифицирующее действие гипокинетического стресса на изменение болевой чувствительности у крыс при экспериментально вызванной висцеральной боли. У крыс четвертой группы, которые перед АТ подвергались суточному ограничению подвижности, общая продолжительность болевых реакций уменьшилась на 27,37 % ($P < 0,05$) (реакции лизания живота – на 91,71 % [$P < 0,01$], корчей – на 21,89 % [$P < 0,05$]) относительно значений данных показателей у крыс третьей группы (рис. 3, А).

Предварительное воздействие ГК стресса изменило и продолжительность неболевых поведенческих феноменов у крыс после воздействия болевого фактора. При этом длительность двигательной активности увеличилась на 24,14 % ($P < 0,05$), а пассивного поведения, напротив, уменьшилась на 72,55 % ($P < 0,02$) по сравнению со значениями соответствующих показателей у крыс, подвергавшихся изолированному воздействию болевого фактора (рис. 3, Б).

После трехсуточной ГК наблюдалось максимальное уменьшение общей продолжительности болевых реакций на 87,94 % ($P < 0,01$), что реализовалось в основном за счет уменьшения продолжительности реакции корчей на 94,62 % ($P < 0,001$) относительно значений у животных третьей группы (АТ) (рис. 3, А). Анализ продолжительности неболевых поведенческих феноменов показал, что длительность двигательной активности увеличилась на 41,7 % ($P < 0,05$) (бега – на 80,92 % [$P < 0,001$], приема пищи – на 90,57 % [$P < 0,001$]), а пассивного поведения и реакции груминга, напротив, уменьшилась на 58,68 % ($P < 0,05$) и 55,74 % ($P < 0,001$) соответственно относительно значений данных показателей у животных третьей группы (АТ) (рис. 3, Б).

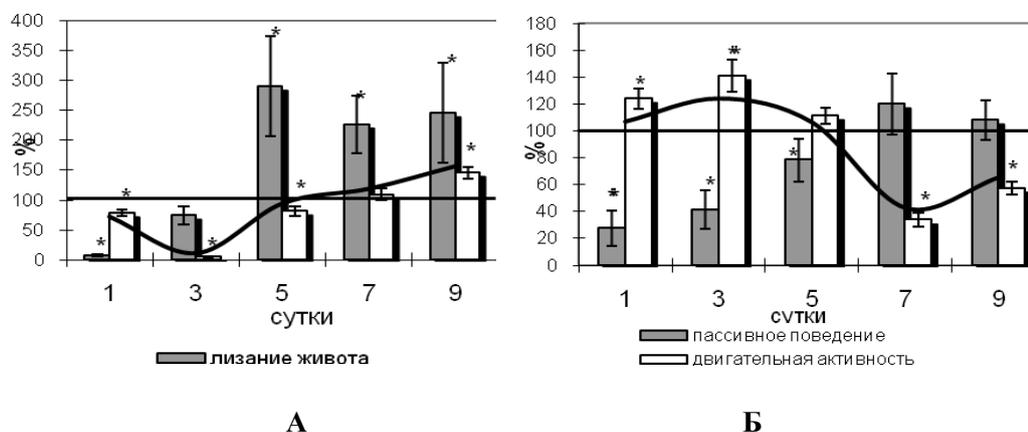


Рис. 3. Изменение продолжительностей болевых (лизания живота и корчей) (А) и неболевых (двигательной активности и пассивного поведения) (Б) поведенческих

феноменов у крыс, подвергнутых комбинированному действию гипокинезии и болевого фактора в ацетатном тесте в течение девяти суток наблюдения (за 100 % приняты значения у животных, подвергнутых изолированному действию болевого фактора).

Примечание: * – достоверность различий по критерию Стьюдента относительно значений у животных, подвергнутых действию изолированного болевого стресса.

После пятисуточной ГК динамика длительности поведенческих проявлений у крыс в АТ изменилась. Так, по сравнению со значениями, зарегистрированными у животных данной группы (ГК+АТ), на третьи сутки ограничения подвижности произошло увеличение общей продолжительности болевых реакций на 82,56 % ($P < 0,01$) (лизания живота – на 215,35 % [$P < 0,001$], корчей – на 76,04 % [$P < 0,01$]). При этом относительно значений этих показателей у крыс третьей группы (АТ) отмечалось увеличение общей продолжительности болевой реакции лизания живота на 189,79 % ($P < 0,05$) на фоне уменьшения продолжительности реакции корчей на 18,58 % ($P < 0,05$).

Изменялись продолжительности и неболевых поведенческих феноменов: длительность двигательной активности уменьшилась на 29,65 % ($P < 0,05$), а пассивного поведения, напротив, увеличилась на 37,06 % ($P < 0,05$) относительно значений у крыс, подвергнутых трехсуточной ГК (рис. 3, Б).

Начиная с седьмых суток ограничения подвижности общая продолжительность болевых реакций у животных четвертой группы (ГК+АТ) имела тенденцию к повышению (на 18,79 %; $P > 0,05$) (длительность реакции лизания живота увеличилась на 126,58 % [$P < 0,01$], а корчей – на 9,58 % [$P > 0,05$]) относительно значений у животных, подвергнутых изолированной инъекции уксусной кислоты (АТ). Изменилась и длительность неболевых феноменов: двигательной активности уменьшилась на 66,23 % ($P < 0,01$), а пассивного поведения имела тенденцию к увеличению (на 20,09 % $P > 0,05$) относительно значений у животных, подвергнутых изолированному болевому воздействию (рис. 3).

После девятисуточной ГК общая продолжительность болевых реакций увеличилась на 56,10 % ($P < 0,01$) (лизания живота – на 145,59 % [$P < 0,05$], корчей – на 45,64 % [$P < 0,01$]) относительно значений у животных третьей группы (АТ) (рис. 3, А). При этом продолжительность двигательных неболевых феноменов уменьшилась на 42,61 % ($P < 0,01$), а пассивного поведения, напротив, имела тенденцию к увеличению (на 8,12 %; $P > 0,05$) относительно значений данных показателей у животных, подвергнутых изолированному действию болевого фактора (рис. 3, Б).

Таким образом, результаты данного исследования позволили выявить способность ГК стресса модифицировать уровень болевой чувствительности животных при висцеральной боли. При этом модификация болевой чувствительности крыс в АТ зависела от продолжительности ГК стресса, что подтверждается динамикой КМ, который в первые пять суток наблюдения составлял в среднем -0,40 усл. ед., а с седьмых по девятые сутки ограничения подвижности увеличился до +0,56 усл. ед. (см. рис. 2).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Гипокинетический стресс изменяет поведенческие реакции у крыс как при действии болевых стрессов (в «формалиновом» и «уксусном» тестах), так и болевую чувствительность на пороговом уровне в тестах «горячей пластинки» и электростимуляции, что свидетельствует о модифицирующем действии гипокинезии на болевую чувствительность животных вне зависимости от природы болевого раздражителя.
2. При адаптации крыс к непродолжительному гипокинетическому стрессу (первые – шестые сутки) отмечается повышение резистентности к болевым факторам, что выражается в уменьшении продолжительности болевых реакций в среднем на 32,30 % ($p < 0,01$) и 40,23 % ($p < 0,01$) на фоне увеличения двигательной активности в среднем на 324,44 % ($p < 0,001$) и 25,54 % ($p < 0,01$) в «формалиновом» и «уксусном» тестах соответственно, болевого порога в среднем на 2,71 % ($p < 0,01$) и 86,47 % ($p < 0,01$) и уровня выносливости боли в среднем на 3,59 % ($p < 0,01$) в тестах «горячей пластинки» и электростимуляции.
3. Продолжительное ограничение подвижности (седьмые – девятые сутки) приводит к уменьшению резистентности к болевым факторам, что проявляется в увеличении продолжительности болевых реакций в среднем на 9,95 % ($p > 0,05$) и 37,45 % ($p < 0,01$) на фоне уменьшения двигательной активности в среднем в 2,96 раза ($p < 0,01$) и в 2,75 раза ($p < 0,01$) в «формалиновом» и «уксусном» тестах соответственно, болевого порога в среднем на 3,50 % ($p < 0,05$) и 55,56 % ($p < 0,01$) и уровня выносливости боли в среднем на 2,89 % ($p < 0,05$) в тестах «горячей пластинки» и электростимуляции.
4. Модифицирующий эффект гипокинетического стресса на болевую чувствительность у крыс в экспериментальных болевых тестах зависит от продолжительности ограничения подвижности. При этом изменение болевой чувствительности (уменьшение и увеличение) животных при гипокинетическом стрессе может служить критерием перехода эустресса в дистресс.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ и Министерства образования, науки и молодежи Республики Крым в рамках научного проекта № p_a 16–44–910604 «Нейроиммуноэндокринные механизмы адаптации организма к условиям длительного ограничения подвижности».

Список литературы

1. Калюжный Л. В. Физиологические механизмы регуляции болевой чувствительности / Л. В. Калюжный. – М.: Медицина, 1984. – 216 с.
2. Брагин Е. О. Нейрохимические механизмы регуляции болевой чувствительности / Е. О. Брагин – М.: Изд-во Ун-та дружбы народов, 1991. – 248 с.
3. Вейн А. М. Боль и обезболивание / А. М. Вейн, М. Я. Авруцкий. – Медицина, 1997. – 280 с.
4. Коваленко Е. А. Гипокинезия / Е. А. Коваленко, Н. Н. Гуровский. – М.: Медицина, 1980. – 307 с.
5. Чуян Е. Н. Влияние миллиметровых волн нетепловой интенсивности на развитие гипокинетического стресса у крыс с различными индивидуальными особенностями: Автореф. дис. канд биол. наук. / Чуян Е. Н. – Симферополь, 1992. – С. 25.

6. Сантана Вега Л. Роль индивидуальных особенностей двигательной активности в развитии гипокINETического стресса у крыс: Автореф. дис. канд. биол. наук: 03.00.13 / Сантана Вега Л. – СГУ. – Симферополь, 1991. – 21 с.
7. Dubuisson D. The formalin test: a quantitative study of the analgesic effects of morphine, meperidine and brainstem stimulation in rats and cats / D. Dubuisson, S. G. Dennis – 1997. – С. 161–164.
8. Koster R. Acetic acid for analgesic screening / R. Koster, M. Anderson, E. J. De Beer Fed. – 1959. – С. 412–413.
9. Свідोцтво на комп'ютерну програму обробки, реєстрації і автоматизованого аналізу тривалості та частоти різних видів поведінкових реакцій у тварин, № 19243 від 18.01.2007, М. Луцюк, Е. Джелдубаєва.
10. O'Callaghan J. Quantification of the analgesic activity of narcotic antagonists by a modified hot-plate procedure / J. O'Callaghan, S. G. Holtzman // Pharmacol. Exp. Ther. – 1979. – P. 497–505.
11. Папин А. А. Исследование анальгетического компонента премедикации методом тепловой сенсометрии / А. А. Папин, О. В. Петров, Ф. Ф. Какурин [и др]. // Анестезиология и реаниматология. – 1983. – № 1. – С. 18–20.
12. Василенко А. М. Тензоалгометрия / А. М. Василенко // Боль и ее лечение. – 1997. – N 6. – С. 56–75.
13. Слоним А. Д. Виды и формы адаптивного поведения животных / А. Д. Слоним // Руководство по физиологии "Физиология поведения. Нейрофизиологические закономерности". – М.: Наука, 1986. – С. 23–79.
14. Golombek D. A. Time-dependent melatonin analgesia in mice: inhibition by opiate or benzodiazepine antagonist / D. A. Golombek, E. Escolar, L. J. Burin [et al]. // Eur. J. Pharmacol. – 1991. – № 1. – P. 25–30.

MODIFYING EFFECT OF HYPOKINETIC STRESS ON CHANGE PAIN SENSITIVITY OF RAT (Part 1)

Chuyan E. N., Zayachnikova T. V., Ravaeva M. Yu., Mironyuk I. S., Birukova E. A.

*V. I. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Crimea, Russian Federation
E-mail: m-ravaeva@rambler.ru*

Modifying action of a hypokinetic stress is investigated on change of behavioral phenomena in rats with experimentally induced tonic somatic, visceral, acute heat pain and electrical stimulation.

It is shown that at adaptation of rats to short hypokinetic to a stress (the first – the sixth days) increase in resistance to painful factors is noted that is expressed in reduction of duration of painful reactions, and long restriction of mobility (the seventh – the ninth days) leads to reduction of resistance to painful factors that is shown in increase in duration of painful reactions.

Thus, the hypokinetic stress changes behavioural reactions at rats as at action of painful stresses (in "formalin" and "acetic" tests), and painful sensitivity at the threshold level in tests of "a hot plate" and electrostimulation that demonstrates the modifying action of a gipokineziya on painful sensitivity of animals regardless of the nature of a painful irritant.

However, the modifying effect of a hypokinetic stress on painful sensitivity at rats in experimental painful tests depends on mobility restriction duration. At the same time change of painful sensitivity (reduction and increase) of animals at a hypokinetic stress can serve as criterion of transition of an eustress to a distress.

Keywords: hypokinetic stress, behavioral reactions, tonic pain, visceral pain, acute thermal pain, electrical stimulation.

References

1. Kalyuzhnyy L. V. *The physiological mechanisms of regulation of pain sensitivity*, 216. (M.: Meditsina (1984).
2. Bragin E. O. *The neurochemical mechanisms of regulation of pain sensitivity*, 248. (M.: Izd-vo Un-ta druzhby narodov, 1991).
3. Veyn A. M., Avrutskiy M. Ya. Pain and pain relief, 280 (Meditsina, 1997).
4. Kovalenko E. A., Gurovskiy N. N. *Hypokinesia*, 307. (M.: Meditsina, 1980).
5. Chuyan E. N. Influence of millimeter waves on the development of non-thermal intensity hypokinetic stress in rats with various individual characteristics : Avtoref. dis. kand biol.nauk., 25. (Simferopol', 1992).
6. Santana Vega L. The part of individual characteristics of physical activity in the development hypokinetic stress in rats: Avtoref. dis. kand. biol. nauk: 03.00.13 /SGU, 21. (Simferopol,1991).
7. Dubuisson D. *The formalin test: a quantitative study of the analgesic effects of morphine, meperidine and brainstem stimulation in rats and cats*, 161. (1997).
8. Koster R. Acetic acid for analgesic screening, *De Beer Fed.*, 412 (1959).
9. Certificate in computer software processing, registration and automated analysis duration and frequency of different types of behaviors in animals: № 19243 vid 18.01.2007 , M. Lutsyuk, E. Dzheldubaeva.
10. O'Callaghan J. Quantification of the analgesic activity of narcotic antagonists by a modified hot-plate procedure, *Pharmacol. Exp. Ther.*, 497 (1979).
11. Papin A. A., Petrov V., Kakurin F. F. The research component of the analgesic sedation by heat sensometrii, *Anesteziologiya i reanimatologiya*, 1, 18 (1983).
12. Vasilenko A. M. Tenzoalgotometriya, *Bol' i ee lechenie*, 6, 56 (1997).
13. Slonim A. D. *Types and forms of adaptive behavior of animals: Rukovodstvo po fiziologii "Fiziologiya povedeniya. Neyrofiziologicheskie zakonomernosti"*. 23. (M: Nauka 1986).
14. Golombek D. A., Escolar E., Burin L. J. et al. Time-dependent melatonin analgesia in mice: inhibition by opiate or benzodiazepine antagonist, *Eur. J. Pharmacol.*, 1, 25. (1991)