

**УДК 57.043**

## **ВРЕМЕННАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ БОЛЕВОЙ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ КРЫС ПОД ВЛИЯНИЕМ ГИПОКИНЕТИЧЕСКОГО СТРЕССА**

*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*

В работе исследована взаимосвязь поведенческих реакций крыс в болевом (формалиновом) тесте. Данные корреляционного и кластерного анализов свидетельствуют о том, что в механизмах модифицирующего действия гипокинетического стресса на уровень болевой чувствительности в ранние сроки ограничения подвижности (первые – пятые сутки) большое значение имеет восстановление взаимосвязей между болевыми и неболевыми поведенческими проявлениями, а в более поздние сроки (седьмые – девятые сутки) – разобщение и уменьшение корреляционных взаимосвязей между данными поведенческими проявлениями. Модифицирующее действие гипокинетического стресса на уровень болевой чувствительности проявляется в изменении ритмических процессов продолжительностей болевых и неболевых проявлений у животных в микродиапазоне: на ранних сроках ограничения подвижности отмечается корректирующее и синхронизирующее действие гипокинезии, что проявляется в большем сходстве амплитудно-фазовых характеристик продолжительностей поведенческих проявлений с таковыми у животных, подвергнутых ложному действию болевого фактора; в поздние сроки ограничения подвижности происходит развитие десинхроноза, причем в большей степени, чем у крыс, подвергнутых изолированному действию болевого фактора.

**Ключевые слова:** гипокинезия, боль, формалиновый тест, биологические микроритмы, крысы.

### **ВВЕДЕНИЕ**

В наших предыдущих исследованиях показано, что гипокинетический (ГК) стресс изменяет поведенческие реакции у крыс при действии болевых стрессов в «формалиновом» и «уксусном» тестах, как и болевую чувствительность на пороговом уровне в тестах «горячая пластинка» и электростимуляция, что свидетельствует о модифицирующем действии ГК на болевую чувствительность животных вне зависимости от природы болевого раздражителя [1, 2].

Модифицирующий эффект ГК 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 ГК стрессе может служить критерием перехода эустресса в дистресс [1, 2].

В связи с тем, что изученные поведенческие реакции тесно взаимосвязаны между собой, то представляет определенный интерес проследить изменение взаимосвязи этих показателей в болевом «формалиновом тесте» у животных. Такие взаимосвязи

можно установить путем применения кластерного и корреляционного анализов, что явилось целью настоящего исследования.

### **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ**

Формирование однородных групп животных осуществлялось по уровню двигательной активности и эмоциональности в тесте «открытого поля» [1].

Крыс содержали в условиях вивария при температуре 18 – 20<sup>0</sup>С на стандартном пищевом рационе и в естественных (искусственно созданных) условиях освещения (12 часов темнота: 12 часов свет). Световая фаза начиналась в 7.00 утра. Эксперименты проводились в одно и то же время светлой половины суток (с 9.00 до 11.00 часов), так как у грызунов болевой порог в течение суток варьирует.

Для исследования микроритмики болевой чувствительности животных использовали данные «формалинового теста» (ФТ) – продолжительность болевой и неболевой (двигательная активность и пассивное поведение) поведенческих проявлений за 120 минут наблюдения после инъекции формалина.

Оценка временной организации болевой чувствительности осуществлялась с помощью косинор-анализа. Результаты исследования обрабатывались с использованием корреляционного и кластерного статистических методов.

### **РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ**

Дендрограммы кластерного анализа продолжительностей изученных поведенческих проявлений у интактных животных, подвергнутых ложному действию болевого фактора (инъекции физраствора в дорсальную поверхность стопы задней конечности) (Кф), построенные путем иерархического объединения их в кластеры, имели близкие связи и были объединены в общие кластеры (первый кластер – продолжительности реакций боли и грумिंगа, второй – бега и приема пищи, третий – сна) (рис. 1).

Дендрограмма, отражающая данные кластерного анализа поведенческих проявлений у крыс второй группы, подвергавшихся изолированному действию болевого фактора в ФТ, отличалась от таковой у животных контрольной группы: число кластеров не изменилось (3), однако произошли существенные изменения в их структуре: болевая реакция оказалась обособлена в отдельный кластер от неболевых поведенческих феноменов, которые образовали два других плотных кластера. Причем между двумя первыми и третьим кластерами увеличилась длина связи, что свидетельствует о значительной разобщенности неболевых и болевой поведенческих реакций в ФТ крыс этой группы (рис. 1).

При последовательном действии ГК стресса и болевого фактора у животных в первые – пятые сутки ограничения подвижности обнаружено большее сходство дендрограммы кластерного анализа поведенческих проявлений с таковой у крыс контрольной группы, нежели с дендрограммой у животных, также подвергавшихся экспериментальной тонической боли, но без воздействия ГК (рис. 1). При этом показатель продолжительности болевой реакции оказался объединенным в общие кластеры с неболевыми поведенческими проявлениями, как и в дендрограмме

кластерного анализа у крыс контрольной группы, а расстояние между показателями продолжительности болевых и неболевых проявлений уменьшилось по сравнению с дендрограммой у крыс в ФТ без предварительного воздействия ГК, что следует расценивать как уменьшение связи между рассматриваемыми поведенческими реакциями.

Корреляционный анализ подтвердил сделанный вывод, проиллюстрировав распад свойственных интактным животным связей, появление новых связей между показателями продолжительности боли и покоя, бега и сна, а также изменение знака коэффициента корреляции между показателями длительности боли и приема пищи (рис. 2).

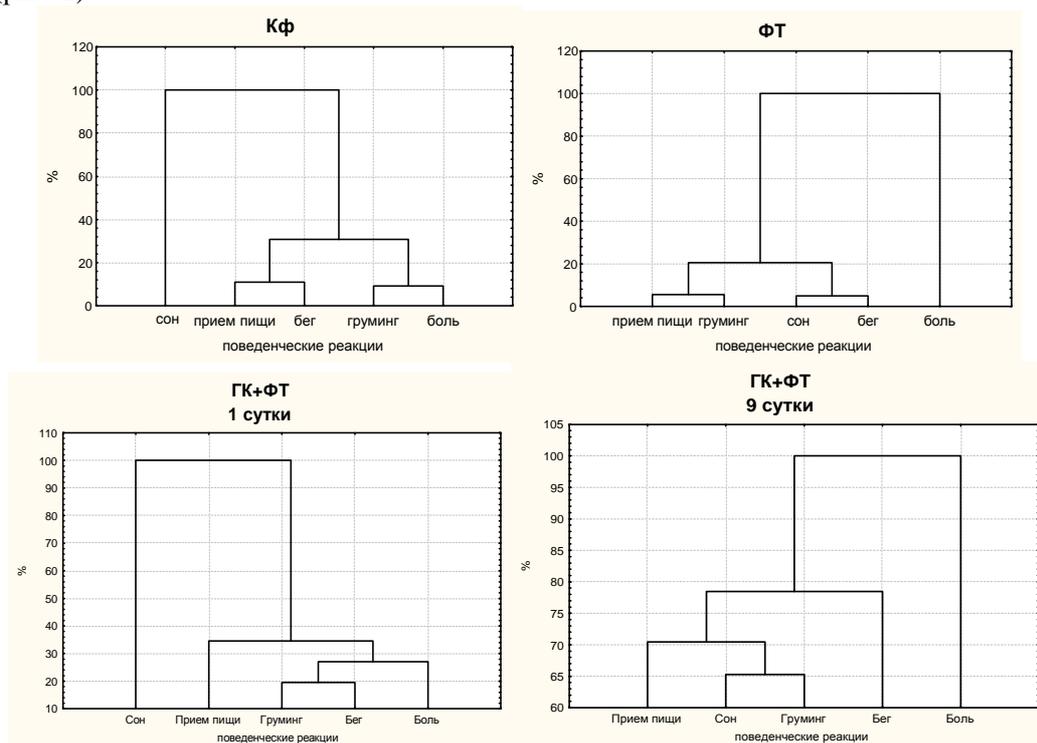


Рис. 1. Дендрограммы кластерного анализа показателей продолжительности болевых и неболевых поведенческих реакций у крыс, подвергнутых введению физиологического раствора ( $K_{\phi}$ ), изолированному (ФТ) и комбинированному с гипокинетическим стрессом (ГК+ФТ) действию болевого фактора в «формалиновом тесте» в разные сроки ограничения подвижности.

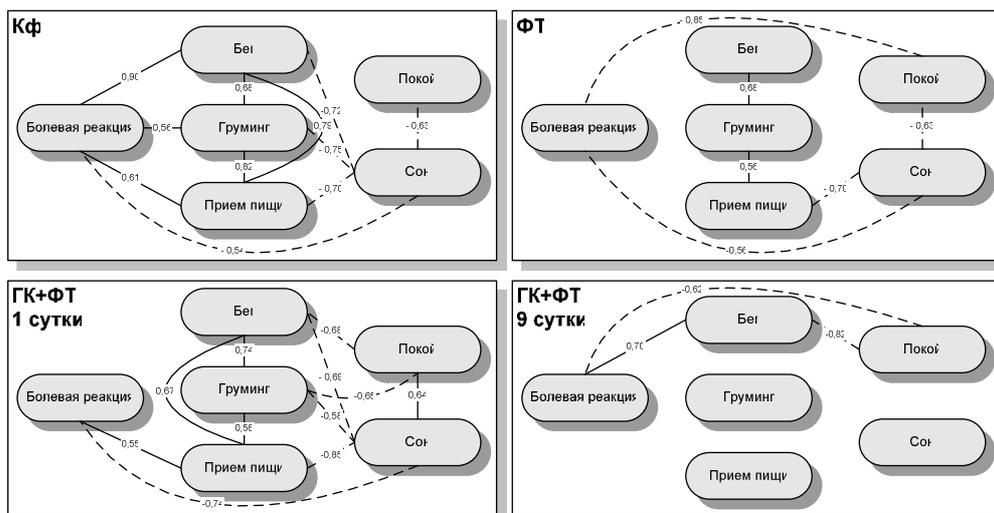


Рис. 2. Коэффициенты корреляции ( $p < 0,05$ ) между изученными поведенческими проявлениями у крыс, подвергнутых введению физиологического раствора (Кф), изолированному (ФТ) и комбинированному с гипокинетическим стрессом (ГК+ФТ) действию болевого фактора в «формалиновом тесте» в разные сроки ограничения подвижности.

Под влиянием последовательного действия ограничения подвижности в течение первых пяти суток и болевого фактора произошло уменьшение количества достоверных коэффициентов корреляции между болевыми и неболевыми поведенческими проявлениями по сравнению с таковыми в контрольной группе животных, однако картина корреляционных взаимоотношений между изученными поведенческими проявлениями существенно отличалась от животных второй группы, подвергнутых изолированному действию болевого фактора (рис. 2).

Полученные данные корреляционного и кластерного анализов свидетельствуют о том, что в модифицирующем действии ГК стресса на болевую чувствительность животных в ранние сроки ограничения подвижности (1–5-е сутки) большое значение имеет восстановление взаимосвязей между различными болевыми и неболевыми поведенческими проявлениями при действии болевого фактора.

Подтверждением влияния ГК стресса на болевую чувствительность крыс в зависимости от сроков ограничения подвижности являются также полученные данные об изменении ритмических процессов болевой чувствительности на разных сроках ограничения подвижности. У крыс, подвергнутых изолированному действию болевого фактора, наблюдались существенные нарушения микроритмики продолжительности болевых и неболевых поведенческих проявлений, выраженные в значительном изменении амплитуд (увеличение или уменьшение) и существенных сдвигах фаз в выделенных периодах относительно значений этих показателей у крыс, которым вместо раствора формалина вводился физраствор, что подтверждает выраженное рассогласование продолжительности поведенческих проявлений у

животных в ФТ.

Косинорограммы микроритмов также иллюстрируют ослабление координации между болевыми и неболевыми поведенческими проявлениями у животных, подвергнутых экспериментальной тонической боли (рис. 3). Полученные данные о нарушении микроритмики продолжительности изученных поведенческих проявлений под влиянием болевого фактора указывают на развитие у животных этой группы ФТ десинхроноза, который является следствием развития в организме стресс-реакции и предшествует развитию патологических состояний с последующими информационными, энергетическими, обменными и структурными изменениями [3, 4]. На ранних сроках ограничения подвижности (1–5-е сутки) наблюдалось большее сходство амплитудно-фазовых характеристик продолжительности поведенческих проявлений с данными показателями у крыс контрольной группы (Кф), чем с таковыми у животных, подвергнутых изолированному болевому фактору ФТ. Косинорограммы интегральных микроритмов болевого фактора у животных, находившихся в условиях комбинированного действия на ранних сроках (1–5-суточного) ГК стресса, и показателей поведенческих проявлений наглядно иллюстрируют восстановление фазовых взаимоотношений данных показателей относительно таковых у животных контрольной группы, что свидетельствует о синхронизации продолжительностей изученных поведенческих реакций в микродиапазоне (рис. 3).

Таким образом, полученные данные показали, что у животных, подвергнутых комбинированному действию пятисуточной ГК и болевого фактора, произошло уменьшение продолжительности болевых реакций на фоне увеличения болевого порога, уровня выносливости боли и двигательной активности, восстановление взаимосвязей между болевыми и неболевыми поведенческими проявлениями и нормализация амплитудно-фазовых характеристик данных показателей, указывающее на координацию и синхронизацию продолжительности изученных поведенческих реакций. Следовательно, болевая чувствительность крыс при ограничении подвижности в течение первых пяти суток уменьшилась.

Вероятно, зарегистрированные изменения являются наиболее благоприятными для развития адаптивного поведения, защищают организм от неблагоприятных последствий первого периода ограничения подвижности и болевого стресса и свидетельствуют о развитии в организме животных перекрестной, или кросс-адаптации [5]. Это означает, что адаптация к какому-либо стрессору, в частности к ГК стрессу, может не только повышать устойчивость организма к действию данного фактора, т. е. вызывать прямой защитный эффект, но и увеличивать устойчивость к действию других факторов, в данном случае болевого.

Однако длительное ограничение подвижности (7–9-е сутки) привело к увеличению продолжительности болевой реакции в «формалиновом тесте» относительно значений у крыс, подвергнутых изолированному действию болевого фактора.

Так, на дендрограмме показателей поведенческих проявлений у крыс, подвергнутых комбинированному действию болевого фактора в ФТ и ГК стресса, на 7-е сутки ограничения подвижности все еще отмечается объединение показателей болевых и неболевых поведенческих проявлений в общие кластеры, однако

расстояние между кластерами существенно увеличилось (рис. 1). На 9-е сутки ГК болевая реакция оказалась обособлена в отдельный кластер от неболевых поведенческих проявлений, а структура дендрограммы стала в большей мере схожа с таковой у животных, подвергнутых действию болевого фактора, нежели у крыс контрольной группы.

Таким образом, полученные данные корреляционного и кластерного анализов свидетельствуют о том, что модифицирующее действие ГК стресса при действии болевого фактора в более поздние сроки ограничения подвижности разобщает взаимосвязи между поведенческими проявлениями.

Результаты косинор-анализа показали, что в более поздние сроки ГК стресса (7 – 9-е сутки) отмечается значительное изменение амплитудно-фазовых характеристик выделенных периодов относительно значений как крыс контрольной группы (Кф), так и крыс, подвергнутых изолированному болевому фактору (ФТ), что свидетельствует о развитии десинхронизации у животных, подвергнутых комбинированному действию ГК и болевого фактора, даже в большей степени, чем у крыс, подвергнутых изолированному действию ФТ. Эти данные подтверждаются косинорограммами, которые демонстрируют выраженное рассогласование фаз между болевыми и неболевыми поведенческими проявлениями (рис. 3).

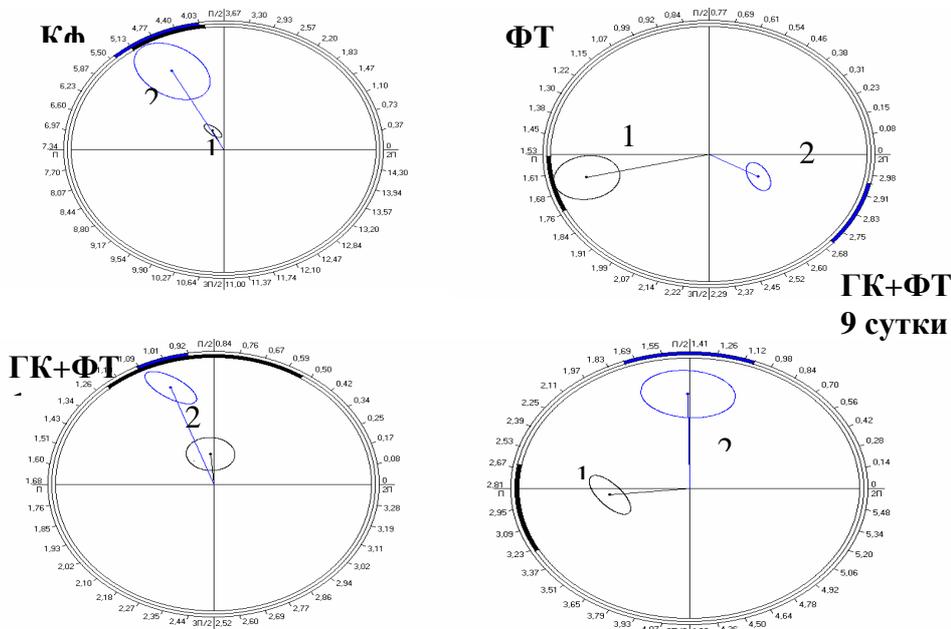


Рис. 3. Косинорограммы интегральных микроритмов показателей продолжительности болевой (1) и неболевой (2) поведенческих проявлений у крыс, подвергнутых введению физиологического раствора (Кф), изолированному (ФТ) и комбинированному с гипокинетическим стрессом (ГК+ФТ) действию болевого фактора в «формалиновом тесте», в разные сроки ограничения подвижности в периоде  $\approx 21,0$  минута.

Такие изменения изученных поведенческих феноменов при действии болевого фактора на фоне ГК могут быть связаны с более поздними сроками ограничения подвижности, которое приводит к развитию первой стадии общего адаптационного синдрома или стресс-реакции тревоги [5].

#### **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

1. Данные кластерного и корреляционного анализов показывают о том, что в механизмах модифицирующего действия гипокинетического стресса на уровень болевой чувствительности на ранних сроках ограничения подвижности большое значение имеет восстановление взаимосвязей между болевыми и неболевыми поведенческими проявлениями, а в более поздние сроки гипокинезии – разобщение и уменьшение корреляционных взаимосвязей между данными поведенческими проявлениями.
2. Модифицирующее действие гипокинетического стресса на уровень болевой чувствительности проявляется в изменении ритмических процессов продолжительностей болевых и неболевых проявлений у крыс в микродиапазоне: на ранних сроках ограничения подвижности отмечается корригирующее и синхронизирующее действие ограничения подвижности, что проявляется в большем сходстве амплитудно-фазовых характеристик продолжительностей поведенческих проявлений с таковыми у животных, подвергнутых ложному действию болевого фактора; в поздние сроки гипокинезии происходит развитие десинхроноза, причем в большей степени, чем у животных, подвергнутых изолированному действию болевого фактора.

*Работа выполнена при финансовой поддержке в рамках инициативной части государственного задания № 6.5452.2017/8.9 Минобрнауки России в сфере научной деятельности темы «Временная организация физиологических систем человека и животных: феноменология и механизмы генерации и регуляции микро- и мезоритмов».*

*Выполнено при поддержке Программы развития ФГАОУ ВО «КФУ имени В. И. Вернадского» на 2015–2024 годы в рамках реализации академической мобильности по проекту «Сеть академической мобильности “Академическая мобильность молодых ученых России – АММУР”» в ФГБНУ «Научно-исследовательский институт нормальной физиологии имени П. К. Анохина».*

*Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ и Министерства образования, науки и молодежи Республики Крым в рамках научного проекта № p\_a 16-44-910604.*

*Работа выполнена на оборудовании КП ФГАОУ ВО КФУ им. В. И. Вернадского» «Экспериментальная физиология и биофизика».*

Список литературы

1. Чуян Е. Н. Модифицирующее действие гипокINETического стресса на изменение болевой чувствительности крыс (Часть 1) / Е. Н. Чуян, Т. В. Заячникова, М. Ю. Раваева, И. С. Миронюк, Е. А. Бирюкова // Ученые записки Крымского федерального университета имени В. И. Вернадского Биология. Химия. – 2016. – Том 2 (58), № 3. – С. 55–64.
2. Чуян Е. Н. Модифицирующее действие гипокINETического стресса на изменение болевой чувствительности крыс (Часть 2) / Е. Н. Чуян, Т. В. Заячникова, М. Ю. Раваева, И. С. Миронюк, Е. А. Бирюкова // Ученые записки Крымского федерального университета имени В. И. Вернадского Биология. Химия. – 2016. – Том 2 (58), № 4. – С. 66–74.
3. Ашофф Ю. Биологические ритмы. / Ю. Ашофф – М.: Мир, 1984. – 414 с.
4. Степанова С. И. Биоритмологические аспекты проблемы адаптации / С. И. Степанова – М.: Наука, 1985. – 244 с.
5. Меерсон Ф. З. Общий механизм адаптации и роль в нем стресс-реакции, основные стадии процесса / Ф. З. Меерсон // Физиология адаптационного процесса. – М.: Наука, 1985. – С. 77–123.

**TEMPORAL ORGANIZATION OF PAIN SENSITIVITY OF RATS UNDER THE INFLUENCE OF HYPOKINETIC STRESS**

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

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

The study examined the relationship of behavioral reactions of rats to the pain test, and data modification reaction under the effect of hypokinetic stress. Use of cluster and correlation analyses allowed to characterize changes in the rhythmic processes of the duration of pain and not pain manifestations in rats microcapsule: in the early stages of the mobility limitation (first to fifth day), there is correcting the synchronizing action of hypokinesia, which is manifested in a greater similarity of amplitude-phase characteristics of the durations of behavioral manifestations to those seen in animals subjected to the action of about the pain factor; in the later stages of the mobility limitation (seventh to ninth day) is the development of desynchronization, even to a greater extent than in rats subjected to the isolated effect of the pain factor.

The data of cluster and correlation analyzes show that in the mechanisms of the modifying effect of hypokinetic stress on the level of pain sensitivity at early stages of mobility limitation, the restoration of interrelations between pain and non-behavioral manifestations is of great importance, and in later periods of hypokinesia, the separation and reduction of the correlation relationships between the data behavioral manifestations.

The modifying effect of hypokinetic stress on the level of pain sensitivity is manifested in a change in the rhythmic processes of the durations of pain and nebolevymi manifestations in rats in the micro range: early correction of the mobility notes the corrective and synchronizing effect of the limitation of mobility, which manifests itself in a greater similarity of the amplitude-phase characteristics of the durations of behavioral manifestations to those in animals subjected to the false action of the pain factor; in the

late periods of hypoxenia, desynchronosis develops, and to a greater extent than in animals subjected to the isolated action of the pain factor.

**Keywords:** hypokinesia, pain, formalin test, biological microrite, rats.

#### References

1. Chuyan E. N., Zachnikova T. V., Ravaeva M. Yu., Mironyuk I. S., Birukova E. A. Modifying effect of hypokinetic stress on change pain sensitivity of rat (part 1), *Scientific Notes of V. I. Vernadsky Crimean Federal University. Biology. Chemistry*, 2 (68), **3**, 55 (2016).
2. Chuyan E. N., Zachnikova T. V., Ravaeva M. Yu., Mironyuk I. S., Birukova E. A. Modifying effect of hypokinetic stress on change pain sensitivity of rat (part 2), *Scientific Notes of V. I. Vernadsky Crimean Federal University. Biology. Chemistry*, 2 (68), **4**, 66 (2016).
3. Ashoff Ju. *Biological rhythms*, 414 (M.: Mir, 1984).
4. Stepanova S. I. Biorhythmic aspects of the problem of adaptation, 244 (M.: Nauka, 1985).
5. Meerson F. Z. General mechanism of adaptation and the role of the stress response, the main stages of the process, *Physiology of the adaptation process.*, 77–123 (M.: Nauka, 1985).